

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933

N° 12

**Contribution à l'étude bactériologique
des produits opothérapiques**

THÈSE

**pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)**

Présentée et soutenue le 24 Mai 1933

PAR

Paul LAJOINIE

JURY { MM. RADAIS, *Président.*
HERISSEY, *Professeur.*
RÉGNIER, *Agrégé.*

MELUN

IMPRIMERIE LEGRAND ET FILS

1933



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547502_0012

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1932-1933

N° 12

**Contribution à l'étude bactériologique
des produits opothérapiques**

.....

THÈSE

**pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)**

Présentée et soutenue le 24 Mai 1933

PAR

Paul LAJOINIE

JURY { MM. RADAIS, *Président.*
HERISSEY, *Professeur.*
RÉGNIER, *Agrégé.*

MELUN

IMPRIMERIE LEGRAND ET FILS

1933

Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, *, ☉.
 P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ☉ I.
 P. DESPORT, *Secrétaire*, *, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, *, ☉ I.	Botanique générale.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, ☉ I.	Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. *, ☉ I.	Zoologie.
LEBEAU, O. *, ☉ I.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, *, ☉ I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, *, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, *, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☉ I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, ☉ I.

Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. *, ☉ I.
 et GUERBET, *, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques
LAUNOY, O. *, ☉ I.	Pharmacodynamie.
DELABY, *, ☉ I.	Minéralogie.
PICON, ☉ I.	Chimie minérale.
BACH, *, ☉ I.	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, ☉ A.	MM. MASCRÉ, *, ☉ I.	MM. BEDEL, ☉ I.
PICON, ☉ I.	FLEURY, *, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
	BACH, *, ☉ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☉ I., *agrégé*, chargé des T. P. de 1^{re} année. Chimie générale.
 FLEURY, *, ☉ I., et RÉGNIER, *, ☉ I. :
agrégés, chargés des travaux de Chimie analytique.
 SOUÈGES, *, ☉ I. Micrographie.
 LEROUX, *, ☉ I. Physique.
 DEVAL, *, *, ☉ I. Microbiologie.
 DELABY, *, *, ☉ I., PICON, ☉ I., et
 MASCRÉ, *, ☉ I. : *agrégés*, chargés des Travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BERNARD, *, ☉ I.



A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MA MÈRE

A MON PÈRE

A MON FRÈRE

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RADAIS

DOYEN HONORAIRE DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

*Qui me fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse, en
témoignage de mon profond
respect et de ma gratitude.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HÉRISSEY

PHARMACIEN DES HOPITAUX

*En témoignage de ma profonde
reconnaissance et de mon
respectueux dévouement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. RÉGNIER

PHARMACIEN DES HOPITAUX

*Qui m'a constamment prodigué
ses conseils, en témoignage de
mes sentiments de très vive
reconnaissance et de mon entier
dévouement.*

INTRODUCTION

Les produits opothérapiques occupent dans la thérapeutique actuelle une place fort importante. Ces médicaments sont utilisés, soit par voie buccale (poudres d'organes et extraits fluides), soit par injections hypodermiques. C'est sous la forme de poudres d'organes qu'ils sont encore le plus employés, car la préparation étant faite sans résidus, ces produits contiennent la totalité des principes actifs. Jusqu'à présent, les fabricants ont dirigé, à juste raison, tous leurs efforts vers l'amélioration des méthodes de préparation et en particulier des méthodes de dessiccation des pulpes organiques. En effet, il s'agissait d'apporter au malade, maintenus dans leur intégrité, tous les principes actifs de ces organes, et l'on sait avec quelle facilité ces principes actifs s'altèrent sous des influences telles que la chaleur et l'oxygène de l'air. Disons que les méthodes industrielles de préparation employées à l'heure actuelle ont permis de réaliser presque parfaitement ce but.

Tout dernièrement, il y eut, parmi les pharmaciens qui se sont consacrés à ces préparations, une sorte d'inquiétude lorsqu'on leur signala que leurs produits contenaient, d'une façon constante, un nombre très élevé de microorganismes (microbes et moisissures); microorganismes qui devaient être déjà, d'après les premières indications, considérés comme responsables de l'altération des médicaments préparés avec les poudres d'organes, et qui, chose bien plus grave, pouvaient être capables de présenter un véritable pouvoir pathogène.

Ayant toujours été intéressé par la préparation si particulière de ces médicaments et désirant, s'il m'est possible, y consacrer plus tard une part de mon activité, j'ai été

amené à étudier ce problème nouveau dont la solution est d'une grande importance pour les pharmaciens.

J'ai tout d'abord pris conseil de M. le professeur HÉRISSEY, qui s'est toujours occupé de « l'altération et la conservation des médicaments chimiques et galéniques », au laboratoire duquel j'avais déjà commencé à travailler; puis sous la direction de M. RÉGNIER, j'ai abordé l'étude des questions suivantes : les produits opothérapiques non injectables, appelés généralement extraits totaux ou poudres d'organes, préparés et conservés dans de bonnes conditions, contiennent-ils des microorganismes? Dans l'affirmative, ce qui paraît probable, en contiennent-ils suffisamment pour que cette présence soit nuisible? Parmi ces microbes existe-t-il des organismes pathogènes, dont la mise en évidence devrait obliger à surveiller de façon toute spéciale l'administration de ces produits?

Tant au laboratoire de M. RÉGNIER, à l'hôpital Ambroise-Paré, qu'au laboratoire que MM. BADREAL ont bien voulu mettre à notre disposition dans leur usine de produits opothérapiques, nous avons procédé à un certain nombre d'essais pour répondre aux questions précédentes. Nous présentons dans notre thèse le résultat des ces essais. Il est bien entendu que nos recherches ont porté avant tout sur des poudres d'organes préparées avec soin et en bon état de conservation, telles que le pharmacien doit toujours les délivrer aux malades. Pourtant, il nous est arrivé, pour quelques points particuliers, d'analyser des médicaments opothérapiques conservés dans des conditions défectueuses, altérés et renvoyés de ce fait au fabricant.

Dans le premier chapitre, nous exposerons de quelle manière nous avons identifié et dénombré les microbes et les moisissures trouvés dans des produits de diverses origines et préparés par différents procédés. Nous dirons aussi de quelle façon nous avons cherché si ces organismes représentaient un pouvoir pathogène.

Dans le deuxième chapitre, après avoir exposé les diverses techniques utilisées pour préparer les poudres d'organes, nous avons cherché à connaître l'origine des micro-

organismes et nous avons suivi l'évolution de ces germes au cours de la fabrication.

Dans le troisième chapitre, nous exposerons les résultats qu'ont donnés les essais effectués pour éviter et diminuer soit la contamination, soit la pullulation des germes.

Enfin, réunissant toutes les données ainsi obtenues, nous essaierons d'en tirer des conclusions pratiques.

Avant de commencer notre travail, nous tenons à remercier M. le professeur RADAIS, doyen honoraire de la Faculté de pharmacie, membre de l'Académie de médecine, du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider notre jury de thèse.

M. le professeur HÉRISSEY a bien voulu nous inscrire dans son laboratoire et nous a toujours prodigué ses encouragements et ses conseils; nous sommes heureux de pouvoir le remercier et l'assurer de notre infinie gratitude et de notre respectueux dévouement.

M. le professeur agrégé RÉGNIER a accepté de nous guider dans ce travail; il a suivi pas à pas le développement de nos essais et nous a toujours conseillé utilement; qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre entier dévouement.

A M. SALMON, administrateur délégué de la Coopération Pharmaceutique Française, vont nos sincères remerciements et notre affectueuse reconnaissance pour avoir mis à notre disposition les laboratoires de l'Organotechnie.

MM. J. et A. BADREAU, directeurs de l'Organotechnie, nous ont accueilli dans leur laboratoire de recherches et nous ont permis d'utiliser le matériel de leur usine; ils n'ont pas cessé, durant nos essais, de nous donner de précieux conseils; nous sommes heureux de leur apporter ici, avec nos remerciements, l'assurance de notre sincère gratitude.

Nous adressons aussi aux laboratoires BYLA, CHOAY, TIXIER et aux Usines chimiques des Laboratoires Français nos sincères remerciements pour les échantillons et renseignements qu'ils nous ont si aimablement fournis.

CHAPITRE I

ETUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES MICROORGANISMES PRÉSENTS DANS LES PRODUITS OPOTHÉRAPIQUES

I. — Etude de diverses poudres d'organes

Il nous a fallu effectuer nos recherches sur de nombreux produits opothérapiques. Les altérations signalées ne concernaient pourtant que certains produits (poudres de Thymus et poudres de Surrénales). Il était néanmoins intéressant de pousser plus loin ces premières investigations, et ceci d'autant plus que la récolte, la préparation, la constitution chimique et la conservation pouvaient suffisamment varier d'une glande à l'autre pour que la flore microbienne s'en trouvât différenciée en qualité ou en quantité.

En effet, l'on peut utiliser, parfois même pour une seule sorte d'organes, soit des produits recueillis depuis peu de temps aux abattoirs voisins du lieu de la préparation, soit des organes conservés par congélation et provenant de prélèvements lointains. La préparation peut varier aussi de façon fort sensible. Nous insisterons du reste plus longuement au deuxième chapitre sur ce point particulier. Disons seulement que deux modes principaux de préparation sont en usage dans les laboratoires industriels; l'un basé sur la dessiccation de l'organe pulvé, dans le vide, soit à une température voisine de 0°C (vide sulfurique), soit à une température voisine de 37°C; l'autre basé sur l'entraînement de la vapeur d'eau par un courant d'air desséché dont la température varie entre +5°C et +10°C.

Il peut même y avoir, dans la préparation de certaines

poudres d'organes, des opérations qui n'existent pas dans la préparation des autres; c'est ainsi que, pour les poudres de Surrénales, de Thymus, de Thyroïdes, etc., la préparation se termine par une lixiviation à l'éther qui enlève les lipides. Ceci nous amène à la troisième cause de variation, à savoir la constitution chimique des glandes, et par conséquent celle des poudres d'organes. Dans ces poudres peuvent être présentes, en quantité variable, non seulement les substances qui serviront d'aliments aux microbes : albumines, sucres et graisses, mais aussi des substances particulières qui peuvent exercer une action paralysante ou peut-être même accélérante sur la multiplication des germes. Pour ne citer que les hormones isolées à l'état pur, dont il faut tenir compte, mentionnons l'Adrénaline dans les poudres de Capsules Surrénales, la Thyroxine dans les poudres de Corps Thyroïdes. Enfin, nous devons envisager le mode de conservation du produit : récipient (flacon, boîte de carton ou de métal, cachet), température extérieure, lumière ou obscurité, état hygroscopique de la pièce et aussi, bien entendu, la durée de cette conservation.

Pour toutes ces raisons et afin que notre travail ait une valeur suffisamment générale, nous avons étudié des glandes variées provenant de produits récoltés de façons différentes et préparés par les diverses techniques généralement en usage dans les laboratoires industriels.

Nous avons donc étudié, du point de vue microbiologique, les produits suivants :

1° POUDRES D'OVAIRES

Ces produits sont préparés avec des ovaires de brebis, de truies, de génisses.

Poudre d'ovaires 1 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché

au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 2 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite trois mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 3 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux ans après la fabrication.

Conservation : cachets en boîte de carton maintenus en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 4 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite cinq ans après la fabrication.

Conservation : cachets en boîte carton ayant séjourné en lieu humide, les cupules étaient recouvertes de moisissures.

Poudre d'ovaires 5 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : vide à une température de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 6 : Provenance : glandes frigorifiées importées de Hollande.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 7 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite quatre mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 8 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 9 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 10 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite trois mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre d'ovaires 11 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide en présence d'acide sulfurique.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

2° POUDRES DE SURRÉNALES (1)

Ces produits sont préparés avec des Capsules Surrénales de bovidés.

Poudre de surrénales 12 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite huit jours après la fabrication.

Conservation : en boîte métallique bien fermée maintenue en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

(1) C'est justement à l'occasion de l'utilisation de ces produits que fut soulevé le problème que nous étudions. Remarquons que les préparations médicamenteuses (cachets) dont l'altération fut signalée n'étaient pas composées uniquement de poudres d'organes, mais contenaient, en outre, un certain nombre de poudres minérales telles que le phosphate de chaux.

Poudre de surrénales 13 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 14 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite cinq ans après la fabrication.

Conservation : cachets en boîte de carton ayant séjourné en lieu humide; les cupules étaient recouvertes de moisissures.

Poudre de surrénales 15 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 16 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite quatre mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

**Poudre de surrénales 17 : Provenance : glandes frigori-
fiées d'Amérique du Sud.**

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 18 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 19 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite trois mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 20 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de surrénales 21 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide en présence d'acide sulfurique.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

3° POUDRES DE THYMUS (1)

Ces produits sont préparés avec des Thymus de veau ou d'agneau.

Poudre de thymus 22 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de thymus 23 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de thymus 24 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

(1) Voir la note précédente sur la poudre de Surrénales.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite deux mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

4° POUDRES DE THYROIDES

Ces produits sont préparés avec des Thyroïdes de bovidés.

Poudre de thyroïdes 25 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Poudre de thyroïdes 26 : Provenance : glandes frigorifiées importées de Madagascar.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

5° POUDRE D'HYPOPHYSES

Ces produits sont préparés avec des Hypophyses de bovidés.

Poudre d'hypophyses 27 : Provenance : glandes frigorifiées importées d'Amérique du Sud.

Mode de préparation : courant d'air sec et froid.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite un mois après la fabrication.

Conservation habituelle : flacon de verre bouché au liège maintenu en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

6° POUDRE DE PANCRÉAS (*Pancréatine*)

Ces produits sont préparés avec des pancréas de porcs.

Poudre de pancréas 28 : Provenance : glandes fraîches.

Mode de préparation : vide à une température voisine de $+35^{\circ}$.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite huit jours après la fabrication.

Conservation : en boîte métallique hermétiquement close maintenue en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Enfin, comme il nous est apparu que le ferment digestif (pepsine), qui n'est pas à proprement parler un produit opothérapique, pouvait donner lieu aux mêmes remarques, nous avons joint aux produits précédents :

Pepsine 29 : Provenance : estomacs frais de porcs.

Mode de préparation : digestion dans l'eau acidulée et dessiccation dans le vide.

Durée de conservation : l'étude bactériologique a été faite huit jours après la fabrication.

Conservation : en boîte métallique hermétiquement close en lieu sec à une température voisine de $+15^{\circ}$.

Pour bien mettre en évidence les différences de nature diverse (origine, préparation, conservation), nous avons réuni les caractères des produits dans le tableau suivant :

NATURE des POUDRES d'organes	ORIGINE	MODE DE PRÉPARATION	DURÉE de CONSERVA- TION	PROCÉDÉ de CONSERVA- TION	NUMÉ- RO
Poudres d'Ovaires	glandes frigoriées	courant d'air	1 mois	flacon	1
			3 mois	flacon	2
			2 ans	cachets	3
			5 ans	cachets avariés	4
	glandes fraîches	vide vers + 35° C	1 mois	flacon	5
			2 mois	flacon	6
			4 mois	flacon	7
		courant d'air	2 mois	flacon	8
			2 mois	flacon	9
		vide vers + 35° C	3 mois	flacon	10
			2 mois	flacon	11
Poudres de Surrénales	glandes frigoriées	courant d'air	8 jours	boite métal	12
			1 mois	flacon	13
			5 ans	cachets avariés	14
			1 mois	flacon	15
	glandes fraîches	vide vers + 35° C	4 mois	flacon	16
			2 mois	flacon	17
			2 mois	flacon	18
		courant d'air	3 mois	flacon	19
			2 mois	flacon	20
		vide vers + 35° C	2 mois	flacon	21
			2 mois	flacon	22
Poudres de Thymus	glandes fraîches	courant d'air	1 mois	flacon	23
			1 mois	flacon	24
			2 mois	flacon	25
Poudres de Thyroïdes	glandes fraîches	courant d'air	1 mois	flacon	26
	glandes frigoriées	vide vers + 35° C	1 mois	flacon	27
Poudres d'Hypophyses	glandes frigoriées	courant d'air	1 mois	flacon	28
Poudre de Pancréas	glandes fraîches	vide vers + 35° C	8 jours	boite métal	29
Pepsine	organes frais	digestion puis vide vers + 35° C	8 jours	boite métal	29

II. — Techniques utilisées pour l'identification des microorganismes

Dans une première série d'essais, nous avons cherché à identifier les germes présents dans les poudres d'organes, sans nous préoccuper de leur nombre. Afin d'opérer systématiquement, nous avons commencé par isoler, en premier lieu, les bactéries aérobies, puis les bactéries anaérobies et enfin les moisissures.

A) ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES BACTÉRIES AÉROBIES

Une quantité déterminée (0 g. 50) de poudre d'organes était émulsionnée dans 10 cc. de sérum physiologique stérile. Cette émulsion était utilisée, dès sa préparation, pour l'isolement des germes. Pour cet isolement, nous avons employé les deux milieux de culture suivants :

1° *Bouillon de culture ordinaire.* — 500 grammes de viande hachée et débarrassée de ses graisses et aponévroses sont mis à macérer à $+50^{\circ}$, $+55^{\circ}\text{C}$ pendant une demi-heure dans 1.000 cc. d'eau. On porte ensuite à l'ébullition pendant dix minutes et on passe sur un linge. On ajoute :

Peptone bactériologique	20 g.
Chlorure de sodium.....	5 g.

On fait dissoudre à feu doux; on filtre sur papier Charadin mouillé, on alcalinise légèrement; on porte à l'autoclave à 117°C pendant quinze minutes; on filtre de nouveau; on répartit en tubes et on stérilise à 115°C pendant vingt minutes.

2° *Bouillon gélosé, réparti en tubes inclinés.* — Pour préparer ce milieu de culture, on ajoute au précédent après alcalinisation, 20 g. de gélose lavée et gonflée par un séjour de quelques heures dans l'eau; on fait dissoudre à feu doux. On vérifie la réaction et on alcalinise à nouveau

si besoin est. On colle au blanc d'œuf en portant à l'autoclave à 117° pendant quinze minutes. On filtre sur papier Chardin mouillé; on répartit en tubes; on stérilise à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Au sortir de l'autoclave, on incline les tubes et on laisse le bouillon se solidifier par refroidissement.

Lesensemencements sur ces milieux étaient faits de façon très large.

Dans chaque tube de bouillon était ensemencé, à la pipette, un dixième de centimètre cube de l'émulsion précédente.

Pour lesensemencements sur gélose inclinée, nous avons utilisé, soit la pipette (0,1 cc.) et nous avons procédé à l'étalement du liquide sur la surface nutritive, soit l'anse de platine, et dans ce cas nous ensemencions à la suite, sans recharger, au moins trois tubes, de façon à obtenir des colonies isolées.

Tous ces tubes étaient placés à l'étuve à 37°C pendant 48 heures.

Nous avons ensuite procédé à de nouveaux ensemencements faits à partir des tubes de bouillon ou à partir des colonies déjà isolées sur nos premières géloses. Ces ensemencements ont été effectués, en stries très serrées, sur de nombreux tubes, afin d'obtenir des colonies bien isolées.

Ces nouveaux tubes étaient portés aussitôt à l'étuve à 37° .

Des cultures pures ayant été ainsi obtenues par des repiquages successifs, nous avons étudié systématiquement chacune de ces colonies dans ses caractères extérieurs : forme, couleur; puis nous avons examiné les microbes qui les composent, en tenant compte, non seulement de leur aspect, de leurs dimensions, de leur mobilité, de leurs réactions de coloration, mais encore des réactions biochimiques qu'ils présentent. Nous sommes ainsi arrivés à identifier ces germes.

Nous allons indiquer brièvement la composition des milieux qu'il nous a fallu préparer.

Gélatine ordinaire. — Préparation d'une macération de viande comme pour le bouillon ordinaire; addition et dissolution à feu doux de :

Peptone bactériologique	20 g.
Chlorure de sodium.....	5 g.
Gélatine	120 g.

Neutralisation; chauffage à l'autoclave à 112° pendant dix minutes. Filtration. Répartition et stérilisation à 110° pendant dix minutes.

L'ensemencement se fait par piqûre et on porte à l'étuve à 24°C.

Sérum coagulé. — Coagulation du sérum sanguin par chauffage à 65° des tubes inclinés.

Gélose ascite. — Addition de 2 cc. de liquide d'ascite à de la gélose ordinaire stérile fondue en tubes et maintenue en surfusion à +45°C.

Gélose Veillon. — Préparation d'un bouillon gélosé renfermant 0,8 pour 100 de gélose sèche; addition de :

Glucose	1,50 g. %
Nitrate de potassium.....	0,10 g. %

Répartition en tubes. Stérilisation.

L'ensemencement se fait par piqûre profonde, avec une pipette de Pasteur fermée à l'extrémité, dans la gélose fondue au bain-marie bouillant pendant quinze minutes et refroidie à 40, 45°C.

Eau peptonée. — Solution de :

Peptone bactériologique	10 g.
Chlorure de sodium	5 g.

dans 1.000 cc. d'eau. Ebullition, répartition, stérilisation.

Ovalbumine. — Coagulation de l'albumine de l'œuf par la chaleur; addition de cubes d'albumine découpés dans des tubes d'eau peptonée. Stérilisation.

Géloses tournesolées sucrées. — Préparation d'eau peptonée gélosée à 2 pour 100 de gélose sèche; addition de 2

pour 100 du sucre à utiliser et d'une quantité suffisante de teinture de tournesol pour obtenir une coloration bleue très nette.

Nous avons préparé ainsi des géloses contenant les sucres suivants : glucose, galactose, lactose, lévulose, maltose, mannite et saccharose.

L'ensemencement de ces milieux se fait à l'anse de platine en touchant légèrement la surface de la gélose en un ou plusieurs points.

Bouillon cloche sucré. — On prépare des tubes d'eau peptonée sucrée à 2 pour 100, dans lesquels on introduit un tube plus petit et plus court renversé. Ce tube a pour but de recueillir les gaz provenant de la fermentation du sucre, si elle a lieu.

Nous avons utilisé les sucres suivants : glucose, lactose, maltose et saccharose.

Lait tournesolé. — Lait additionné de teinture de tournesol en quantité suffisante pour obtenir une coloration bleue violacée; stérilisation à 100° pendant une heure.

Pomme de terre. — On découpe des morceaux de pomme de terre de forme demi-cylindrique que l'on introduit dans des tubes de Roux et on stérilise.

Afin d'étudier complètement nos microbes, nous avons employé :

Pour l'examen en coloration (Gram, bleu de méthylène, etc.), les techniques habituelles et les solutions classiques;

Pour l'examen des microbes à l'état vivant, la technique ordinaire entre lame et lamelle;

Pour la mensuration des bactéries, les deux procédés habituels :

1° La chambre claire, adaptée au microscope, nous a permis de dessiner les microbes et de les mesurer après avoir étalonné notre appareil à l'aide d'un micromètre objectif;

2° La mensuration directe avec un oculaire micrométrique dont les graduations avaient été mesurées à l'aide d'une lame micrométrique calibrée.

Après avoir isolé et purifié un grand nombre de souches microbiennes, les essais d'identification sur les milieux que nous venons de citer et les caractères microscopiques nous ayant montré que beaucoup de ces souches étaient identiques entre elles, nous avons finalement conservé huit souches représentant chacune un microbe différent. Parmi ces souches, il y en a six que nous avons pu identifier à des microbes déjà décrits, les deux autres n'ayant pu être identifiées complètement.

Nous présentons maintenant la description des microbes aérobies que nous avons isolés et identifiés. Faisant suite à cette description, nous avons ajouté des tableaux résumant les caractéristiques des microbes. Pour plus de compréhension, nous avons groupé les microbes par familles, réunissant d'abord les cocci, puis les bâtonnets sporulés identifiés et enfin les bâtonnets sporulés incomplètement identifiés.

L'identification a été faite en utilisant les ouvrages suivants :

Bergey : « Bergey's manual of determinative bacteriology », Baltimore, 1923.

Calmette (A.), Negre (L.) et Bocquet (A.) : Manuel technique de microbiologie et de sérologie », Masson et C^{ie}, Paris, 1925.

Flügge (C.) : « Die mikroorganismen », F. C. W. Vogel, Leipzig, 1896.

Le Blaye (R.) et Guggenheim (H.) : « Manuel pratique de diagnostic bactériologique », Vigot frères, Paris, 1914.

Lehmann (K.-B.) et Neumann (R.-D.) : « Manuel de bactériologie », édition française par le docteur A. Philibert; Baillères et fils, Paris, 1913.

MICROCOCCUS PYOGENES ALBUS (Rosenbach)

Ce microbe se présente au microscope sous forme de cocci ronds immobiles, réunis en grappes plus ou moins volumineuses. Ses dimensions sont assez variables. Dans certaines cultures, ces éléments sont petits, 0,4 μ ; dans d'au-

tres, ils atteignent 0,8 μ . Ces cocci prennent le Gram de façon très nette. La multiplication se fait très bien sur tous les milieux aérés et même dans les milieux privés d'air.

Sur *gélose inclinée*, ce microbe donne des colonies rondes, blanc porcelaine, très régulières. Ces colonies sont épaisses et bombées au centre; en vieillissant, elles se rident à la surface et adhèrent beaucoup au milieu.

Sur *bouillon*, il se fait un trouble abondant et persistant avec un dépôt blanchâtre qui se forme peu à peu.

Sur *gélatine* en piqure, il y a liquéfaction rapide en forme de cône et le liquide devient trouble.

Sur *gélose ascite* et sur *sérum coagulé*, il se fait des colonies semblables à celles données sur *gélose inclinée*.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), les colonies se développent sur toute la hauteur du tube, mais surtout en surface, les colonies ayant poussé en profondeur sont sphériques ou lenticulaires.

Sur *pomme de terre*, il se produit un enduit blanc grisâtre qui s'étend avec rapidité sur tout le milieu nutritif.

Ce microbe coagule le *lait tournesolé* en le faisant virer au rouge; le caillot ne se redissout pas.

En *eau peptonée*, il se fait un trouble avec dépôt abondant, mais il ne produit pas d'indol.

Ce microbe n'attaque pas l'*ovalbumine*.

Il attaque très nettement les sucres tels que le *glucose*, le *galactose*, le *lactose*, le *lévulose* et le *maltose*, en faisant virer au rouge les géloses tournesolées contenant ces différents sucres, mais en bouillon cloche, il ne se produit aucun dégagement gazeux.

Il attaque très lentement la *mannite* et la *gélose mannitée* vire en donnant une teinte à peine rosée.

Il n'attaque pas le *saccharose*, la *gélose saccharosée* reste bleue.

MICROCOCCUS PYROGENES CITREUS (Passet)

Ce microbe se présente au microscope sous forme de cocci, ronds, immobiles, possédant un chromogène jaune

citron, réunis en grappes plus ou moins volumineuses; ses dimensions, assez variables, vont de 0,4 à 0,8 μ . Ces cocci prennent très nettement le Gram.

Ce microbe se multiplie très bien sur tous les milieux aérés, mais il cultive mal dans les milieux privés d'air.

Sur *gélose inclinée*, ce microbe donne des colonies rondes, régulières, bombées au centre, de teinte jaune citron.

Sur *gélose ascite* et sur *sérum coagulé*, il donne les mêmes colonies.

Sur *bouillon*, il se produit un trouble abondant, et, lentement, il se forme un dépôt jaune citron.

Sur *gélatine en piqure*, il se produit une liquéfaction lente en cône; la partie liquéfiée devient trouble.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), on obtient de nombreuses colonies à la surface et dans la zone aérobie; de très rares colonies elliptiques poussent dans le début de la zone anaérobie.

Sur *pomme de terre*, il se développe un enduit épais jaune citron.

Ce microbe coagule le *lait tournesolé* en le faisant virer au rouge; le coagulum ne se redissout pas.

En *eau peptonée*, il se fait un trouble abondant et un dépôt jaune citron, mais il ne se produit pas d'indol.

Ce microbe n'attaque pas l'*ovalbumine*.

Sur géloses tournesolées contenant différents sucres, il fait virer au rouge celles qui contiennent du *lévulose*, le virage est plus lent avec le *glucose*; en bouillon cloche, il n'y a aucun dégagement gazeux. Il ne fait pas virer les géloses contenant du *galactose*, du *lactose*, du *maltose*, de la *mannite* et du *saccharose*.

MICROCOCCUS PYOGENES AUREUS (Rosenbach)

Ce microbe se présente au microscope sous forme de cocci, ronds, immobiles, possédant un chromogène jaune orangé, réunis en grappes plus ou moins volumineuses; ses dimensions varient de 0,4 à 0,8 μ . Ces cocci prennent très bien le Gram.

Ce microbe pousse très bien sur tous les milieux aérés et ne pousse pas en anaérobiose.

Sur *gélose inclinée*, il donne des colonies rondes, bombées au centre, très régulières, jaunes orangées.

Sur *gélose ascite* et sur *sérum coagulé*, il donne les mêmes colonies.

Sur *bouillon*, il se fait un trouble abondant et persistant avec, petit à petit, un dépôt jaune orangé.

Sur *gélatine en piqure*, il y a liquéfaction lente en cône, la zone liquéfiée devient trouble.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), les colonies ne se développent que dans la zone aérobie.

Sur *pomme de terre*, il se produit un enduit épais visqueux jaune orangé.

Ce microbe coagule le *lait tournesolé* en produisant une acidification, ce qui fait virer le lait au rouge; le coagulum ne se dissout pas par la suite.

En *eau peptonée*, il se produit un trouble avec dépôt jaune orangé, mais il n'y a pas formation d'indol.

Ce microbe ne dissout pas l'*ovalbumine*.

Sur *gélose tournesolée glucosée*, il donne très lentement (plus de huit jours) une coloration rosée qui s'accroît par la suite; en *bouillon cloche*, il ne produit pas de gaz.

Il n'attaque pas les autres sucres tels que le *galactose*, le *lactose*, le *lévulose*, le *maltose*, la *mannite* et le *saccharose*, les géloses tournesolées ne virent pas au rouge et restent bleues.

BACILLUS SUBTILIS (Cohn)

Bâtonnets moyens (2,5 à 5 μ), assez épais (0,8 μ), à extrémités arrondies, quelquefois en longues chaînettes.

Ce bacille donne facilement des spores ovales incluses, sans qu'il y ait déformation du bâtonnet, puis le protoplasme se détruit aux deux extrémités et la spore subsiste seule.

Il prend le Gram de façon fort nette, mais les formes

vieillies perdent leur régularité et ne prennent plus le Gram que d'une façon très irrégulière.

En culture, ce bacille se montre mobile lorsqu'il est très jeune, dans les milieux liquides; mais rapidement, il donne un voile, sa mobilité s'atténue, puis devient nulle.

Il pousse bien dans les milieux aérés, mais ne pousse pas dans les milieux privés d'air.

Sur *gélose inclinée*, ses colonies se présentent en voile gris blanchâtre, assez irrégulier sur les bords, collé à la gélose, ses extrémités s'élèvent un peu sur les bords du verre, surtout à la base du tube au-dessus de l'eau de condensation; si le voile est un peu vieux, il se plisse légèrement, surtout dans les parties où la gélose est plus humide. Les colonies isolées sont arrondies, à contours irréguliers, avec des prolongements périphériques fins ressemblant à des broussailles ou à du coton.

Sur *gélose ascite*, on obtient les mêmes résultats.

Sur *sérum coagulé*, on obtient les mêmes colonies, mais le sérum se liquéfie lentement (environ sept jours).

Sur *bouillon*, il se produit rapidement un voile membraneux cohérent, fin mais s'épaississant, grim pant sur les parois du tube; le liquide, trouble au début, s'éclaircit rapidement.

Sur *gélatine en piqûre*, il y a liquéfaction lente en cu pule, des grumeaux blanchâtres restent en suspension dans le liquide, le voile reste en surface, la partie liquide est trouble; autour du trait de piqûre, il ne se produit pas d'arborisations.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), ce bacille ne pousse qu'en surface en donnant un voile semblable à celui donné sur *gélose inclinée*.

Sur *pomme de terre*, il se fait un enduit blanc grisâtre, peu saillant qui, en vieillissant, se dessèche et devint gris poussiéreux; le substratum prend une teinte rosée.

Ce bacille coagule le *lait tournesolé* et le décolore sans le faire virer au rouge, le coagulum est peptonisé et se redissout petit à petit, mais la teinte rose n'apparaît jamais.

En *eau peptonée*, il ne se produit pas d'indol.

Ce bacille n'attaque pas l'*ovalbumine*.

Il fait virer au rose assez rapidement les géloses tournesolées contenant du *glucose*, de la *mannite* et du *saccharose*, et provoque une teinte à peine rosée n'apparaissant qu'après le sixième jour avec le *galactose*, le *lactose*, le *lévulose* et le *maltose*.

BACILLUS SIMPLEX (Meyer et Gottheil)

Ce bacille est très voisin du *Bacillus Subtilis*.

Bâtonnets moyens (2,5 à 5 μ), assez épais (0,8 μ), à extrémités arrondies, se présentant en longues chaînettes.

Ce bacille donne très facilement des spores ovales incluses sans qu'il y ait déformation du bâtonnet, puis le protoplasme se détruit aux deux extrémités et seule la spore subsiste.

Il prend le Gram de façon très nette, mais les formes vieilles le prennent très irrégulièrement.

En culture, ce bacille se montre très mobile dans les milieux liquides, mais lorsqu'il donne un voile, la mobilité s'atténue et même disparaît.

Il pousse très bien dans les milieux aérés, mais ne pousse pas dans les milieux privés d'air.

Sur *gélose inclinée*, ses colonies se développent en voile assez semblable à celui donné par le *B. Subtilis*, mais plus mince et plus fragile dans la partie qui recouvre l'eau de condensation. Les colonies isolées sont arrondies, épaisses au centre et minces sur les bords qui sont finement découpés, mais ne présentent pas d'arborisations.

Sur *gélose ascite*, il se forme les mêmes colonies.

Sur *sérum coagulé*, il se forme les mêmes colonies, mais le sérum se liquéfie assez rapidement.

Sur *bouillon*, il se produit un trouble abondant et un dépôt formé de fragments de voile; à la surface, il se forme un voile fragile qui se déchire et tombe rapidement, mais il subsiste autour du tube, au niveau du liquide, un anneau blanchâtre.

Sur *gélatine en piqure*, il y a liquéfaction lente en cu-pule, la partie liquide est trouble et le voile descend avec le liquide et reste ainsi à la séparation des parties liquides et solides.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), il se fait un voile en surface et les colonies ne se forment que dans la zone aérobie.

Sur *pomme de terre*, il se fait un enduit gluant grisâtre.

Ce bacille coagule le *lait tournesolé* et le décolore, puis il le peptonise et le caillot se dissout sans qu'il y ait virage au rouge ni recoloration bleue.

En *eau peptonée*, il ne produit pas d'indol.

Ce bacille n'attaque pas l'*ovalbumine*.

Il n'attaque aucun sucre, et les géloses tournesolées contenant du *glucose*, du *galactose*, du *lactose*, du *lévulose*, du *maltose*, de la *mannite* et du *saccharose*, ne sont pas décolorées et restent bleues.

BACILLUS MENTERICUS VULGATUS (Flügge)

Ce bacille est très voisin du *Bacillus Subtilis*.

Bâtonnets petits (1 à 3 μ), assez épais (0,6 à 0,8 μ), isolés ou en chaînettes courtes, les extrémités sont moins arrondies.

Ce bacille produit rapidement des spores ovales centrales ou subterminales plus petites que les bâtonnets et, par suite, ne les déformant pas; la cellule sporogène se détruit, laissant la spore en liberté.

Sa mobilité est surtout sensible dans les milieux liquides jeunes. Il prend le Gram.

Il pousse fort bien dans les milieux aérés et ne pousse pas dans les milieux privés d'air.

Sur *gélose inclinée*, il se produit rapidement un voile envahissant (plus envahissant que celui du *B. Subtilis*). Ce voile adhère fortement au milieu; il a, quand il est jeune, un aspect de verre dépoli, puis, avec le temps, il se plisse, se

recouvre de bourrelets saillants irréguliers qui lui donnent un aspect particulier.

Sur *gélose ascite* et sur *sérum coagulé*, il se forme un voile identique; le sérum coagulé n'est pas liquéfié.

Sur *bouillon*, il se fait un voile constitué au début par une espèce de dentelle, à réseaux de mailles; plus tard, le voile apparaît continu et ondulé; le bouillon se trouble moins, mais s'éclaircit moins que pour le B. Subtilis.

Sur *gélatine en piqûre*, il se fait une liquéfaction lente en godet sans qu'il y ait d'arborisations autour du trait de piqûre, la zone liquéfiée est trouble, et le voile épais et gaufré qui s'est formé en surface se déprime avec la gélatine.

En *eau peptonée*, il ne se produit par d'indol.

Ce bacille attaque très lentement l'*ovalbumine* et la dissout.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), il se multiplie uniquement dans la zone aérobie.

Sur *pomme de terre*, il se fait une culture abondante, adhérente, couverte de nombreuses saillies plus ou moins élevées, contournées, ressemblant aux circonvolutions des anses intestinales. L'aspect de la colonie est mat et prend avec le temps une teinte gris jaunâtre.

Ce bacille coagule le *lait tournesolé* sans que le coagulum se rétracte; le coagulum est peptonisé lentement et le liquide, d'abord décoloré, prend une teinte bleue qui s'accentue petit à petit.

Il fait virer au rouge les géloses tournesolées contenant de la *mannite* et du *saccharose*; il donne, avec la *gélose glucosée*, une teinte rose apparaissant vers le douzième jour; il n'attaque pas les sucres tels que le *galactose*, le *lactose*, le *lévulose* et le *maltose* dont les géloses restent bleues.

Nous sommes maintenant en présence de bacilles que nous n'avons pu identifier nettement. Nous les désignons par le numéro de la première souche que nous avons isolée. Ces deux bacilles se rapprochent beaucoup du B. Subtilis dont ils ne diffèrent que par l'aspect de leurs co-

lonies sur gélose et certains de leurs caractères biologiques; Ils sont très voisins et leurs différences sont du même ordre que celles qu'ils ont avec le B. Subtilis.

BACILLE SOUCHE VII

Bâtonnets moyens (2,5 à 5 μ), assez épais (0,8 μ), à extrémités arrondies, isolés, jamais en chaînettes. Ce bacille prend bien le Gram quand il est jeune, puis il perd ce caractère en vieillissant.

Ce bacille sporule très facilement en donnant des spores centrales ne déformant pas le bâtonnet, la cellule sporogène se détruit et libère la spore.

Ce bacille est mobile dans les cultures liquides et solides, mais, dans les voiles, sa mobilité s'atténue et disparaît.

Sur *gélose inclinée*, il se produit un voile semblable à celui du B. Subtilis, mais ce voile est plus épais, légèrement teinté de jaune paille et ne recouvre pas l'eau de condensation. Les colonies isolées sont arrondies, à bords peu découpés.

Sur *gélose ascite*, ce bacille donne les mêmes colonies.

Sur *sérum coagulé*, il y a liquéfaction lente, mais totale.

Sur *bouillon*, il se produit un léger trouble qui ne disparaît pas; le voile formé en surface est fragile, mais lorsqu'il se rompt, il surnage.

Sur *gélatine en piquêre*, il y a liquéfaction lente en cylindre; la zone liquéfiée est trouble.

En *eau peptonée*, il ne se produit pas d'indol.

Ce bacille n'attaque pas l'*ovalbumine*.

En *gélose Veillon* (tubes profonds), il pousse uniquement en surface et dans la zone aérobie.

Sur *pomme de terre*, il se fait un enduit épais gris jaunâtre qui se dessèche.

Ce bacille coagule le *lait tournesolé* avec décoloration, puis il le peptonise; le coagulum se dissout sans coloration.

Il fait virer au rouge très nettement les géloses tournesolées contenant du *glucose*, du *lévulose*, du *maltose*, de

la mannite et du saccharose; il fait virer très peu et très lentement les géloses tournesolées contenant du galactose et du lactose.

BACILLE SOUCHE VIII

Bâtonnets petits (1 à 3 μ), assez minces (0,6 μ), à extrémités arrondies, disposés en chaînettes assez courtes.

Ce bacille donne facilement des spores centrales non déformantes, puis le protoplasme se détruit aux extrémités et seule la spore subsiste.

Il prend très nettement le Gram dans les formes jeunes, mais très irrégulièrement dans les formes vieilles.

Il se montre mobile dans la plupart de ses cultures, sauf dans les voiles où la mobilité s'atténue.

Sur gélose inclinée, il se forme un voile épais, gluant, semblable à celui du B. Subtilis. Les colonies isolées sont irrégulières et sans arborisations.

Sur gélose ascite, il donne les mêmes colonies.

Sur sérum coagulé, il y a liquéfaction rapide.

Sur bouillon, il se forme à la surface un voile mince et le liquide devient trouble.

Sur gélatine en piqure, il se produit une liquéfaction assez rapide en cylindre et un voile épais qui reste en surface; la zone liquide se trouble.

En eau peptonée, il ne se produit pas d'indol.

Ce bacille dissout très lentement l'ovalbumine.

Sur pomme de terre, il se fait un enduit blanc grisâtre, épais, visqueux, qui s'accroît rapidement.

En gélose Veillon (tubes profonds), il pousse uniquement en surface et dans la zone aérobie.

Ce bacille coagule le lait tournesolé en donnant un coagulum rétractile qui se peptonise assez rapidement; le liquide se décolore, mais ne se recolore pas ensuite.

Il fait virer en rouge la gélose tournesolée glucosée.

Il attaque lentement le lévulose; il n'attaque pas du tout le galactose, le lactose, le maltose, la mannite et le saccharose.

	SOUCHE I	SOUCHE II	SOUCHE III	SOUCHE IV
Caractères microscopiques ..	cocci en grappes	cocci en grappes	cocci en grappes	Bâtonnets en chaînes courtes, spore ovale non déformante, la cellule sporogène se détruit.
Mobilité	immobile	immobile	immobile	mobile
Dimensions	0,4 à 0,8 μ	0,4 à 0,8 μ	0,4 à 0,8 μ	1 à 3 μ par 0,6 μ
Gram.	positif	positif	positif	positif
Gélatine (piqûre)	liquéfaction rapide en cône	liquéfaction lente	liquéfaction très lente	liquéfaction lente, voile à la séparation
Bouillon	trouble, dépôt blanc	trouble, dépôt jaune citron	trouble, dépôt jaune orangé	voile en dentelle à la surface, liquide trouble.
Gélose inclinée..	colonies rondes blanc porcelaine	colonies rondes jaune citron	colonies rondes jaune orangé	voile à allure de verre dépoli
Gélose ascite...	id.	id.	id.	id.
Sérum coagulé..	id.	id.	id.	id.
Gélose Veillon..	pousse en aérobose et en anaérobose	pousse en aérobose et en anaérobose	pousse uniquement en aérobose	pousse en surface
Lait tournesolé.	coagulation et acidification	coagulation et acidification	coagulation et acidification	coagulation, peptonisation, le liquide devient bleu.
Pomme de terre	enduit blanc grisâtre	enduit jaune citron	enduit jaune orangé	enduit sec en forme d'anses intestinales
Eau peptonée...	pas d'indol	pas d'indol	pas d'indol	pas d'indol
Ovalbumine....	non attaquée	non attaquée	non attaquée	attaque très lente
Glucose.	attaque rapide	attaque lente	attaque très lente	id.
Galactose	id.	non attaqué	non attaqué	non attaqué
Lactose	id.	id.	id.	id.
Lévilose	id.	attaque rapide	id.	id.
Maltose	id.	non attaqué	id.	id.
Mannite	attaque lente	id.	id.	attaque nette
Saccharose.....	non attaqué	id.	id.	id.
Conclusion.....	Micrococcus Pyogenes albus (Rosenbach)	Micrococcus Pyogenes citreus (Passet)	Micrococcus Pyogenes aureus (Rosenbach)	Bacillus Mesentericus vulgaris (Flügge)

SOUCHE V	SOUCHE VI	SOUCHE VII	SOUCHE VIII
bâtonnets en chaînes assez longues, spore ovale non formante, la cellule sporogène se détruit.	bâtonnets en chaînes assez longues, spore ovale non déformante, la cellule sporogène se détruit.	bâtonnets isolés, spore ovale non déformante, la cellule sporogène se détruit.	bâtonnets en chaînes courtes, spore ovale non déformante, la cellule sporogène se détruit.
mobile	mobile	mobile	mobile
2,5 à 5 μ par 0,8 μ	2,5 à 5 μ par 0,8 μ	2,5 à 5 μ par 0,8 μ	2,5 à 5 μ par 0,8 μ
positif	positif	positif	positif
liquéfaction lente en cupule, voile en surface	liquéfaction lente en cupule, voile à la séparation.	liquéfaction lente en cylindre	liquéfaction rapide en cylindre, voile à la surface.
voile remontant sur les parois du tube, liquide clair.	trouble, anneau au niveau du liquide	voile fragile, trouble léger	voile mince, trouble abondant
colonies blanches bords cotonneux, pas d'arborisation.	colonies blanches bords découpés, sans arborisation.	colonies rondes, bords peu découpés, jaune paille très clair.	colonies irrégulières, sans arborisation, voile épais gluant
id.	id.	id.	id.
liquéfaction lente	liquéfaction rapide	liquéfaction lente	liquéfaction assez rapide
pousse en surface	pousse en surface	pousse en surface	pousse en surface
coagulation, peptonisation, pas de recoloration.	coagulation, peptonisation, pas de recoloration.	coagulation, décoloration, puis peptonisation.	coagulation, décoloration, puis peptonisation.
enduit gluant, le substratum devient rose	enduit gluant grisâtre	enduit gluant grisâtre	enduit gluant grisâtre
pas d'indol	pas d'indol	pas d'indol	pas d'indol
non attaquée	non attaquée	non attaquée	non attaquée
attaque rapide	id.	attaque rapide	attaque rapide
attaque très lente	id.	attaque très lente	non attaqué
id.	id.	id.	id.
id.	id.	attaque rapide	attaque très lente
id.	id.	id.	non attaqué
attaque nette	id.	id.	attaque lente
id.	id.	id.	id.
Bacillus Subtilis (Cohn)	Bacillus Simplex (Meyer et Gottheil)	Bacille voisin du Bacillus Subtilis	Bacille voisin du Bacillus Subtilis

Recherche particulière du Streptocoque

Nous venons, dans les pages précédentes, de donner, avec leurs caractères, les noms des microbes isolés à partir des produits opothérapiques. Parmi ces microbes, nous ne relevons pas la présence de bactéries du groupe Streptococcus. Si nous nous reportons aux travaux de Hucker et Hucker (18) sur la flore bactérienne des laits en poudre, nous trouvons, dans la conclusion, les conditions que doivent remplir ces produits pour qu'ils ne soient pas nocifs pour ceux qui les absorbent. La première condition exigée est : l'absence de Streptocoque hémolysant.

Nous avons donc voulu de nouveau nous assurer que les microbes de ce groupe étaient véritablement absents. Pour cela, nous avons étudié les poudres d'organes en effectuant, comme précédemment, des ensemencements, mais sur les milieux suivants dont certains conviennent particulièrement pour la multiplication des Streptocoques.

- 1° Bouillon liquide ordinaire;
- 2° Bouillon gélosé ordinaire;
- 3° Bouillon cœur de bœuf (1);
- 4° Bouillon glucosé liquide;
- 5° Bouillon glucosé gélosé;
- 6° Bouillon ascite liquide;
- 7° Bouillon ascite gélosé;
- 8° Bouillon ascite glucosé liquide;
- 9° Bouillon ascite glucosé gélosé.

Dans aucun de ces milieux de culture, nous n'avons trouvé de microbes du groupe Streptococcus. Nous nous croyons donc en droit de conclure à leur absence. Nos produits remplissent ainsi la première condition exigée pour les laits en poudre; nous verrons plus loin (page 121) s'ils remplissent les autres conditions.

(1) Pour la préparation du bouillon cœur de bœuf, voir plus loin, à l'isolement des bactéries anaérobies (page 48).

B) ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES BACTÉRIES ANAÉROBIES

a) *Ensemencement direct en gélose profonde de Veillon.*

— L'émulsion de poudre d'organes étaitensemencée dès sa préparation dans les géloses glucosées nitratées de Veillon (1). L'ensemencement était effectué, à l'aide d'une pipette de Pasteur, fermée à son extrémité effilée, dans plusieurs tubes de gélose profonde, sans recharger la pipette, de façon à obtenir des colonies isolées.

Lesensemencements étaient faits de façon tout à fait large.

Pour pouvoir étudier les colonies de façon plus pratique, nous aspirions la géloseensemencée, avant sa solidification, dans des tubes de Vignal. Après le développement des colonies, il suffisait d'ouvrir le tube en prenant les précautions nécessaires (nettoyage externe du tube, stérilisation de la scie à verre, etc.), et de prélever la colonie avec un fil de platine pour l'examiner ou la repiquer sur de nouvelles géloses.

Les géloses de Veillon et les tubes de Vignal étaient ensuite portés à l'étuve à $+37^{\circ}\text{C}$.

Nous avons retrouvé les microbes aérobies déjà cités : bacilles sporulés du groupe B. Subtilis en surface et dans la zone aérée supérieure, cocci du groupe Staphylococcus particulièrement dans la zone aérobie, mais aussi dans toute la masse.

En employant ce procédé direct, nous n'avons trouvé aucune bactérie anaérobie.

Craignant que les bactéries anaérobies, peu nombreuses, nous aient échappé, et afin d'éviter une confusion toujours possible avec les colonies de Staphylocoques poussant en anaérobiose, nous avons procédé à des essais complémentaires basés sur les données suivantes :

Etant donné que beaucoup de bactéries anaérobies et en particulier celles de la putréfaction des albumines de la

(1) Pour la préparation, voir plus haut (page 30).

viande (voir la thèse de MARTELLY : « *La digestion animale et la putréfaction* », Paris, 1902), sont des bactéries sporulées, à spores résistantes, nous avons pensé à utiliser la chaleur pour nous débarrasser des bactéries non sporulées pouvant vivre en anaérobiose, c'est-à-dire du Staphylocoque.

Un deuxième procédé nous a été suggéré par l'étude des milieux vaccinés. Nous avons eu l'idée de « saturer » le bouillon servant à la préparation de la gélose Veillon par des cultures successives de Staphylocoque, jusqu'à ce que le milieu se refuse à la culture de ce microbe. Nous avons ainsi préparé des milieux de Veillon, réfractaires à la culture du Staphylocoque.

Nous allons décrire la marche de ces expériences et donner les résultats obtenus.

b) *Ensemencements en gélose de Veillon après chauffage.* — Nous avons préparé plusieurs émulsions de poudre d'organes dans du sérum physiologique stérile et nous les avons maintenues dans un bain-marie bouillant pendant des temps différents variant de une à dix minutes. C'est avec ces émulsions chauffées que nous avons ensemencé nos géloses de Veillon et nos tubes de Vignal.

Nous avons obtenu, avec des émulsions chauffées pendant une et deux minutes, des cultures assez abondantes dans la zone anaérobie; après un examen approfondi, nous avons pu identifier ces colonies comme produites par le Staphylocoque. Dans la zone aérobie, nous avons eu de nombreuses colonies et des voiles produits par les bacilles du groupe Subtilis.

Nous avons ensuite répété les mêmes essais en augmentant la durée du séjour au bain-marie bouillant et nous avons pu observer, que, pour une durée de trois minutes, le nombre des colonies de Staphylocoque avait diminué dans une très grosse proportion. Si l'on prolonge l'action de la chaleur sur l'émulsion en atteignant cinq et dix minutes, les tubes de gélose ne présentent plus que des colonies et des voiles dans la zone aérobie; un examen de ces voiles nous a permis de constater que le Staphylocoque a

complètement disparu. Dans les tubes de Vignal, où l'anaérobiose est parfaite, nous n'avons trouvé aucune colonie.

Nous résumons ces essais dans le tableau suivant :

	DURÉE DU SÉJOUR DE L'ÉMULSION au bain-marie bouillant	GÉLOSE DE VEILLON		TUBES DE VIGNAL
		ZONE ANAÉROBIE	ZONE AÉROBIE	
1	1 minute	Nombreuses colonies de staphylocoques.	Cocci et bâtonnets sporulés.	Quelques colonies de staphylocoques.
2	2 minutes	Quelques colonies de staphylocoques.	Cocci et bâtonnets sporulés.	Quelques colonies de staphylocoques.
3	3 minutes	Rares colonies de staphylocoques.	Cocci et bâtonnets sporulés.	Très rares colonies de staphylocoques.
4	5 minutes	Aucune colonie.	Uniquement bâtonnets sporulés.	Aucune colonie.
5	10 minutes	Aucune colonie.	Rares bâtonnets sporulés.	Aucune colonie.

c) *Ensemencement en gélose de Veillon vaccinée contre le Staphylocoque.* — Comme nous avons déjà indiqué le principe des bouillons vaccinés, nous allons très brièvement donner la marche suivie pour cette préparation.

Nous avons préparé un bouillon ordinaire et nous l'avons ensemencé avec du Staphylocoque. Nous l'avons mis à cultiver à l'étuve à +37°C. Après trois jours de culture, nous avons stérilisé et filtré ce bouillon, puis nous l'avons réensemencé avec la même souche microbienne. Nous avons porté ce deuxième ensemencement à l'étuve pendant trois jours. Nous avons ensuite recommencé l'opération précédente. Il nous a fallu, durant un mois, tous les trois jours, stériliser, filtrer et réensemencer pour obtenir la vaccination du bouillon.

C'est ce bouillon, devenu réfractaire à la culture du Staphylocoque, qui nous a servi à préparer une nouvelle série de tubes de gélose de Veillon.

Ayant ainsi obtenu ce milieu de culture, nous avons répété les mêmes opérations qu'aux paragraphes précédents, afin de les ensemençer. L'examen, après séjour à l'étuve à $+37^{\circ}\text{C}$, des tubes de Veillon et des tubes de Vignal, nous a montré une zone anaérobie stérile et une zone aérobie recouverte d'un voile épais, formé de bâtonnets sporulés, appartenant au groupe du B. Subtilis.

Nous avons donc essayé, dans les expériences précédentes, de déceler par examen direct, en gélose de Veillon et en tube de Vignal, des microbes anaérobies. Puis, craignant que ces microbes aient pu nous échapper, par une confusion possible avec les anaérobies facultatifs, tels que le Staphylocoque, nous avons éliminé ces derniers organismes par deux procédés :

1^o Ensemencement après destruction par la chaleur des formes végétatives en nous basant sur le fait que les anaérobies sont sporulés;

2^o Ensemencement sur milieu vacciné contre le Staphylocoque.

Ces trois essais d'isolement des bactéries anaérobies ont été négatifs. Pourtant, si nous avons ainsi démontré qu'il n'existe pas dans les poudres d'organes une flore anaérobie notable, comparable à la flore aérobie que nous avons signalée, il n'en reste pas moins qu'il peut y avoir, en nombre restreint, des bactéries anaérobies qui, dans des conditions de conservation défectueuses des produits, pourraient se multiplier et donner lieu à des fermentations putrides. Cette idée est en effet naturelle, quand on pense que la viande de boucherie, qui s'altère en grande partie sous l'action de microbes anaérobies, a la même origine que les produits examinés par nous. Il est vrai que nos produits sont recueillis et conservés avec soin, ce qui n'a pas lieu pour les produits alimentaires. Nous avons voulu procéder pourtant à un dernier essai en faisant précéder l'ensemencement de la gélose de Veillon par un enrichissement préa-

lable dans un milieu convenant parfaitement à la multiplication des bactéries anaérobies.

d) *Ensemencement en gélose de Veillon après enrichissement.* — Nous avons employé, comme milieu d'enrichissement, un bouillon contenant des fragments de viande et additionné de sulfure de calcium pour créer une meilleure anaérobiose.

Pour préparer ce milieu de culture, nous avons débarrassé de sa graisse un cœur de bœuf et nous l'avons haché finement; nous avons préparé, par la méthode ordinaire, du bouillon simple, et dans chaque tube de bouillon frais, nous avons ajouté, jusqu'aux deux tiers environ de la hauteur du bouillon, de la viande hachée. Après stérilisation et vérification de la neutralité, le milieu était prêt à être ensemencé. Afin de nous trouver dans des conditions rigoureuses d'anaérobiose, nous avons pris, avant de faire l'ensemencement, les précautions suivantes : l'émulsion de poudre d'organes fut préparée avec du sérum physiologique stérile, préalablement porté au bain-marie à 100°C pendant dix minutes afin de chasser l'air qu'il pouvait contenir; les tubes de bouillon cœur de bœuf furent aussi, avant leur emploi, portés à 100°C pendant dix minutes, afin de chasser l'air qu'ils pouvaient contenir; puis, au dernier moment, additionnés d'une anse de sulfure de calcium stérile, afin d'absorber l'oxygène qui aurait pu rester dans le milieu.

L'ensemencement fut fait ensuite à la pipette (0,5 cc. par tube) et les tubes de bouillon mis à cultiver dans l'étuve à +37°C pendant trois jours.

Nous avons ensuite repiqué les microbes développés dans ce milieu, sur de nombreux tubes de gélose de Veillon et de Vignal. L'examen à la loupe des colonies qui ont poussé dans la gélose de Veillon nous montre qu'elles sont très régulières, rondes ou ovoïdes. Un prélèvement de ces colonies examiné, après coloration, au microscope, nous a permis de reconnaître dans ces colonies la présence de cocci en grappes du groupe *Staphylococcus*.

Cette dernière série d'essais pour la mise en évidence des bacilles anaérobies s'ajoutant aux précédentes et donnant les mêmes résultats, nous pouvons conclure qu'il n'existe pas, dans les poudres d'organes, de microbes anaérobies, ou, tout au moins, que leur nombre est trop restreint pour que nous ayons pu les déceler.

C) ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES MOISSURES

La présence des moisissures sur les poudres d'organes paraît être une chose admise par de nombreux auteurs. En fait, ces organismes apparaissent plutôt, non pas sur la poudre elle-même, mais sur les bouchons des flacons dans lesquels on les conserve ou sur les cachets qui les contiennent.

Il s'agissait donc de regarder s'il existait véritablement dans les poudres d'organes des moisissures, et, sinon, d'identifier celles fréquemment trouvées sur les bouchons et les cachets, car, malgré leur origine externe, ces moisissures peuvent être absorbées avec la poudre.

1° Essai d'isolement des moisissures à partir des poudres d'organes bien préparées et bien conservées

Afin d'isoler et de cultiver les moisissures, nous avons cherché à établir des milieux de culture qui leur soient favorables. Nous avons utilisé deux milieux capables de permettre le développement de toutes les moisissures et levures que nous pouvions trouver. Ce sont :

a) *La gélose dite de Sabouraud.* — Dissolution, dans un litre d'eau, de :

Peptone bactériologique	10 g.
Glucose	40 g.

Addition de 10 g. de gélose sèche gonflée par un séjour de quelques heures dans l'eau; dissolution à feu doux; filtration; répartition et stérilisation.

b) *Moût de bière gélosé.* — Macération de 200 g. de malt d'orge germé dans 1.000 cc. d'eau à +60°C pendant

trois quarts d'heure. Addition de 4 g. de houblon et ébullition pendant une heure; filtration. Dosage du maltose pour ramener le titre à 3 pour 100. Addition de 15 g. de gélose lavée et gonflée. Dissolution par la chaleur; répartition et stérilisation.

Nous avons employé une émulsion de poudre d'organes faite exactement comme pour l'isolement des bacilles, et une quantité déterminée (0,5 cc.) a été étalée sur les milieux gélosés préalablement coulés en boîte de Petri. Après ensemencement, les boîtes ont été placées à l'étuve à +24°C et examinées à intervalles réguliers.

Après un séjour d'environ quinze jours à l'étuve, nos milieux n'ont montré aucune colonie de moisissures ou de levures, mais, par contre, on notait la présence de quelques colonies microbiennes.

Ces examens négatifs ont été effectués sur les produits cités au début de ce chapitre, et l'ensemencement était fait pour chaque produit, d'une part, sur trois boîtes de gélose de Sabouraud, d'autre part, sur trois boîtes de moût de bière gélosé, ce qui équivalait à six essais pour chaque produit. Nous nous croyons donc en droit de conclure que les poudres d'organes conservées en récipients clos et propres, ne renferment pas de moisissures.

2° Isolement des moisissures à partir du matériel d'enveloppe des poudres d'organes (cachets, bouchons, etc.)

Il arrive quelquefois que sont retournées au fabricant des préparations de poudres d'organes qui ont été refusées, soit par le pharmacien, soit par le malade, parce qu'elles montraient des moisissures à leur surface. Nous avons, sur ces médicaments *altérés et refusés*, isolé et identifié les moisissures. Pour l'isolement, après avoir enlevé d'une façon aussi parfaite que possible le bouchon ou l'enveloppe du cachet, en prenant garde de ne pas faire tomber les spores dans la poudre, nous avons étudié comme précédemment la poudre contenue dans le cachet ou le flacon. Enfin, après avoir isolé ces organismes, nous les avons identifiés, en

nous basant, dans ce but, sur les ouvrages spécialisés les plus récents. Nous avons ainsi utilisé : les cours de MM. les professeurs Radais et Lutz, puis les ouvrages suivants :

Biourge (Ph.) : « Les moisissures du groupe *Penicillium* Link. Etude monographique : « *La Cellule* », vol. 33, 1923, p. 1.

Guilliermond (A.) : « Clef dichotomique pour la détermination des levures », Le François, Paris, 1926.

Henrici (A.-T.) : « *Molds, Yeasts and Actinomycetes* », J. Wiley, New-York, 1930.

Langeron et Tallier : « Nouvelle méthode d'étude et d'essais des champignons levuriformes », *Ann. Parasito*, t. X, 1932, p. 1.

Sartory (R.) : « Guide pratique des principales manipulations de mycologie parasitaire à l'usage des pharmaciens », Le François, Paris, 1917.

Thom (C.) : « *The Penicillia* », Williams et Wilkings Co, Baltimore, 1930.

Thom (C.) et Church (M.) : « *The Aspergilli* », Williams et Wilkings Co, Baltimore, 1926.

3° *Isolement de moisissures et de levures sur des produits provenant de flacons et de cachets avariés*

Nous avons réussi à ouvrir les cachets moisissés sans ensemer la poudre, aussi, les essais de culture ont-ils été négatifs comme les précédents. Pour les produits en flacons, il a été impossible d'enlever les bouchons moisissés sans faire tomber des spores à l'intérieur; aussi avons-nous retrouvé, sur nos boîtes de gélose, les moisissures que nous pouvions récolter directement sur les bouchons.

Nous avons pu presque toujours isoler nos moisissures au fil de platine, en faisant un prélèvement direct sur le milieu altéré (bouchon ou azyne). Une seule fois, nous avons trouvé un mélange d'une moisissure et d'une levure. Il a été très facile d'obtenir un isolement rapide sans utiliser la méthode des dilutions, car les spores de la moisissure se trouvent sur des filaments aériens. Une simple série de repiquage nous a donné des échantillons purs.

Nous avons ainsi obtenu cinq organismes, quatre moisissures et une levure.

4° Identification des moisissures et de la levure

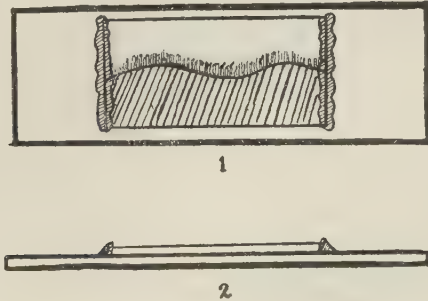
Nous avons cultivé ces organismes sur les milieux spéciaux que nous allons indiquer. Nous les avons ensuite dessinés et mesurés en utilisant le procédé de la chambre claire.

Tous ces organismes ont été cultivés sur :

Carotte. — Fragment demi-cylindrique de carotte en tube de Roux.

Lame cellule. — Dans une goutte pendante de bouillon ordinaire. Nous n'insisterons pas sur la façon d'opérer pour cette culture, car elle est bien connue dans les laboratoires (voir Van Tieghem (31).

Entre lame et lamelle. — Nous avons suivi, pour cette préparation, la technique donnée par Henrici (16) (Molds,



CHAMBRE DE CULTURE

1) Vue de face ; 2) Vue de profil

Yeasts and Actinomycetes, page 33). On prépare un appareil tel, qu'au-dessus d'une lame ordinaire bien propre, soit disposée parallèlement à 1 mm. de hauteur une lamelle, formant avec la lame, une chambre de culture. Pour cela, on applique cette lamelle sur de petites butées de cire de la hauteur voulue, placées sous deux côtés opposés de la lamelle.

Les deux autres côtés sont donc au-dessus de la lame et sont ouverts pour permettre l'introduction du milieu nutritif. D'un côté, à l'aide d'une pipette effilée, on introduit de la gélose liquide, de façon à remplir à demi la chambre de culture. L'ensemencement se fait par le dernier interstice laissé libre et le développement des formations caractéristiques a lieu sur la tranche du milieu nutritif. Ce procédé est plus simple que celui de Van Tieghem, car il ne demande aucun matériel spécial, mais il a l'inconvénient de laisser le développement se produire à l'air libre, ce qui amène une dessiccation rapide du milieu et pourrait occasionner une contamination nuisible.

Comme milieux spéciaux, nous avons employé :

Pour le *Mucor* : un *bouillon cloche glucosé* à 2 p. 100.

Pour la levure : un *bouillon ordinaire*.

Une *gélose pauvre*, suivant la formule de Gorodkowa :

Gélose	1 g. »
Peptone	1 g. »
Bouillon de viande.....	1 g. »
Chlorure de sodium.....	0 g. 50
Glucose	0 g. 25
Eau	100 cc.

Un *moût de bière non gélosé*.

Une *eau de levure sucrée* pour l'étude de la fermentation. On emploie la méthode dite des « petites fermentations », selon les conseils de Guilliermond. On prend une lame cellule stérilisée, on garnit la chambre d'eau de levure stérilisée (ébullition de 100 g. de levure dans un litre d'eau pendant 5 minutes), on y dépose quelques cristaux du sucre que l'on veut essayer et on y ajoute de la levure à étudier. On recouvre avec un lamelle fixée sur l'anneau par de la vaseline stérilisée, en prenant comme précaution de n'introduire aucune bulle d'air. On porte à l'étuve à +24°C. Nous avons employé les sucres suivants : saccharose, glucose, lévulose, lactose et maltose.

Pour les *Penicillium* : le *milieu de Czapeck* :

Nitrate de sodium.....	3 g. »
Phosphate de potassium.....	5 g. »

Sulfate de magnésium.....	o g. 50
Chlorure de potassium	o g. 50
Sulfate ferreux	o g. 01
Saccharose	30 g. »
Gélose	15 g. »
Eau	1.000 cc.

Faire dissoudre à feu doux, filtrer, répartir et stériliser.

Nous avons, par une première étude, classé les organismes dans les différents groupes, en nous basant sur la forme des filaments, cloisonnés ou non, leur développement, ainsi que sur leur appareil reproducteur principal. Nous avons ensuite, afin d'obtenir une identification exacte, cultivé ces organismes sur les milieux spéciaux qui permettent de suivre plus complètement leur développement.

Les organismes que nous avons ainsi isolés, puis identifiés, sont les suivants (répétons qu'il s'agissait de moisissures et de levures isolées sur les enveloppes des poudres d'organes, enveloppes qui, manifestement, étaient contaminées par ces organismes) :

PREMIÈRE SOUCHE

Cette moisissure a été trouvée sur des cachets d'ovarine qui avaient été conservés dans un lieu humide.

Caractères. — Le mycelium est formé de filaments ramifiés non closonnés de 4 à 6 μ de diamètre. A l'extrémité de certains filaments, on remarque des masses globuleuses (sporangies); ces filaments sont appelés sporangiophores, ils sont plus gros, environ 8 μ d'épaisseur, ils sont ramifiés, c'est-à-dire une branche principale portant latéralement des rameaux plus courts. Le sporangie est globuleux, sensiblement elliptique (38 à 42 μ par 46 à 52 μ), sa membrane est recouverte de fins cristaux d'exalate de chaux, il s'ouvre par éclatement et libère ainsi les spores. A l'intérieur du sporangie, il existe une columelle volumineuse en forme de poire, aplatie à son insertion sur le sporangiophore; ses dimensions sont de 14 par 20 μ et parfois plus. Les spores sont ovoïdes de 2 à 4 μ par 4 à 6 μ . Dans la masse mycé-

lienne, on remarque de petites masses noirâtres qui sont des chlamydospores.

Ces caractères permettent de classer cette moisissure dans l'ordre des Phycomycètes, famille des Mucorales, sous-famille des Mucorinées. L'absence de crampons radiciformes ou rhyzoïdes nous donne le genre *Mucor*.

Caractères cultureux. — Sur *Carotte*, on remarque un mycelium abondant recouvrant toute la carotte et envahissant tout le tube, aspect soyeux blanc parsemé de petits points noirs.

Sur *gélose de Sabouraud*, en boîte de Petri, au bout de 24 heures, on obtient une masse cotonneuse blanche qui s'accroît rapidement et envahit toute la boîte, mais sans s'accrocher au couvercle, comme ferait un *Rhizopus* grâce à ses rhyzoïdes.

En *lame cellule* et en *chambre de culture*, on remarque que les spores, après augmentation de volume, envoient un ou plusieurs filaments. Ces filaments se ramifient, mais ne se cloisonnent jamais. A l'extrémité de ces filaments, se forment des masses globuleuses contenant les spores et des masses noirâtres qui sont les chlamydospores.

En *bouillon cloche glucosé*, la moisissure fructifie en produisant un dégagement gazeux dû à la fermentation du sucre; le mycelium se fragmente dans la partie immergée et donne des oïdies sphériques qui se reproduisent par bourgeonnement.

Le mode de ramification des sporangiophores nous permet de classer ce *Mucor* parmi les *Racemomucors*.

En nous basant sur les caractères très complets donnés pour la caractérisation de ce sous-groupe par le tableau des *Mucors* de Lendner, dans l'ouvrage de Henrici, nous avons pu identifier cette moisissure avec le *Mucor Racemosus*.

Nous indiquons dans ce qui suit les caractères qui nous ont servi, en leur conservant leurs numéros d'ordre du tableau :

Branches du sporangiophore non verticillées (B).

Columelle ronde ou ovale non recouverte de poils (2).

Sporangiophores droits (b).

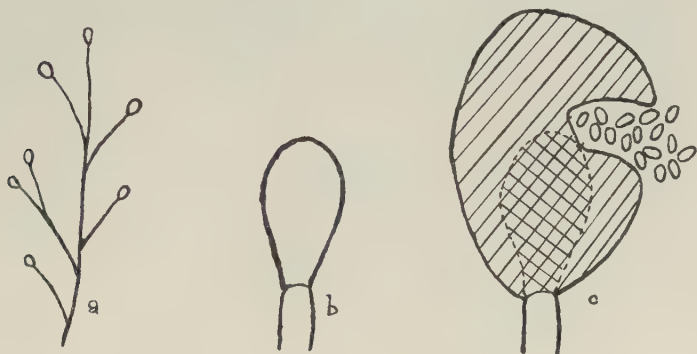
Une seule variété de sporangiophores (II).

Spores de dimensions égales (b').

Membrane sporangiaque non diffluyente, mais se brisant (a'').

Spores ovales (BB).

Sporangiophores ramifiés, chlamydospores lisses; il se forme parfois des zygosporos et des azygosporos (2').



MUCOR RACEMOSUS

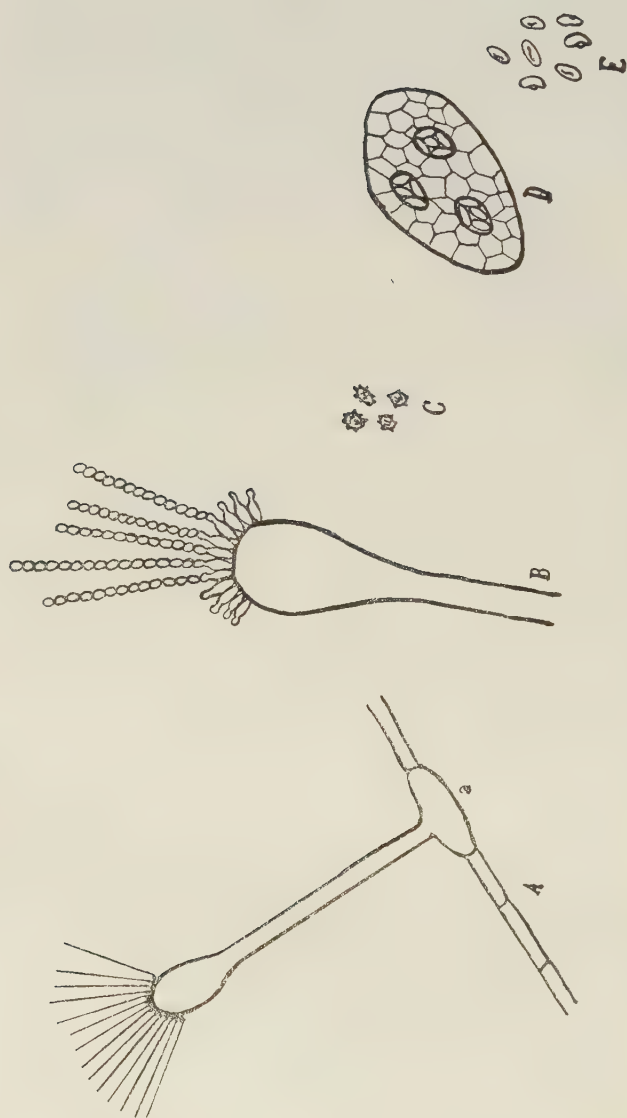
a) Mode de ramification ; b) Columelle ; c) Sporangie éclaté
laissant échapper ses spores

Nous identifions donc cet organisme au *Mucor Racemosus* (Lendner).

DEUXIÈME SOUCHE

Cette moisissure a été trouvée sur des cachets d'ovarine conservés dans un endroit humide.

Caractères. — Le mycélium est formé de filaments ramifiés et cloisonnés de 3 à 4 μ de diamètre. A certains points du filament, on voit une cellule plus grosse (cellule pied) qui sert de point de départ à un filament plus ou moins long de 6 à 8 μ de diamètre (conidiophore). L'extrémité de ce filament se renfle en massue (vésicule) de 14 à 24 μ par 12 à 18 μ ; sur cette vésicule, on remarque, disposés en



ASPERGILLUS GLAUCUS

- a) Filament avec conidiophore et cellule pied ; b) Conidiophore avec sa vésicule,
 ses stérigmates et ses conidies ; c) Conidies ; d) Périthèce avec ses asques et ses ascospores ;
 e) Ascospores.

rayons, des rameaux en forme de bouteilles de 5 à 6 μ de long, appelés phyalides; on ne rencontre pas de phyalides secondaires. Chacune de ces phyalides porte une chaîne de conidies plus ou moins longue et divergeant d'avec ses voisines. Les conidies sont globuleuses, finement échinulées, de couleur verte et mesurent de 3 à 5 μ de diamètre. Dans le mycélium, on remarque des masses jaunes qui sont des périthèces clos ovoïdes ou arrondis de 60 μ par 47 à 50 μ ; par écrasement de l'un d'eux entre lame et lamelle, on s'aperçoit qu'il est formé d'un parenchyme lâche contenant des asques ovoïdes; chaque asque donne naissance à 4 ou 6 ascospores lisses, ovoïdes de 3 μ par 4 à 5 μ , et portant un sillon sur le côté.

Caractères culturels. — Sur *carotte*, on obtient un enduit blanc épais qui passe rapidement au vert. Au bout de plusieurs jours, il se recouvre de petits points jaunes qui, peu à peu, donnent une teinte jaune uniforme à toute la colonie.

En *lame cellule* et en *chambre de culture*, on remarque que la conidie germe en donnant un filament mycélien qui se cloisonne et se ramifie, puis donne des conidiophores avec leurs conidies exactement comme nous venons de le décrire.

Ces caractères nous permettent de classer cette moisissure parmi les Périsporiacées, et d'après le tableau donné par Henrici dans « *Molds, Yeasts and Actinomycetes* » (p. 99), nous pouvons dire que c'est un *Aspergillus* du groupe *Glaucus*.

Suivent maintenant les indications données par Thom et Church dans « *The Aspergilli* », qui nous ont permis d'identifier définitivement cette moisissure.

Membranes des filaments lisses, conidies soit rugueuses, soit lisses, granulations superficielles ou concrétions cristallines.

Ascospores sans proéminences, moins de 6 μ .

Conidies vertes globuleuses finement échinulées souvent de 2,8 à 4,7 μ plus ou moins elliptiques.

Périthèces nombreux jaunes. Ascospores avec un sillon hyalin lisse $4,7\ \mu$ par $3,7\ \mu$.

Ceci nous fait identifier cet organisme avec l'*Aspergillus Glaucus* var. *Amstelodami* (Mangin).

TROISIÈME SOUCHE

Cette moisissure a été trouvée sur des bouchons qui avaient servi à obturer des flacons contenant des extraits opothérapiques fluides.

Caractères. — Mycélium ramifié et cloisonné; conidiophores plus ou moins droits, ramifiés en plusieurs étages : 1° branches; 2° branches secondaires appelées métules; 3° stérigmates ou phyalides portant des chaînes conidiennes divergentes; conidies globuleuses.

D'après ces caractères, nous pouvons classer cette moisissure parmi les Périsporiacées.

Nous allons indiquer maintenant le détail de cet organisme après l'avoir cultivé sur le milieu de Czapeck.

La colonie est à bords minces, veloutés, elle est épaisse au centre, floconneuse, blanche, puis verte et enfin vert foncé. Son envers est incolore, puis il se teinte légèrement de jaune. La colonie s'étale peu pendant la croissance et présente une absence totale de zones concentriques; elle n'a aucune odeur et ne laisse échapper aucun liquide.

Les filaments rampants ou aériens sont assez gros et mesurent de 3 à $4\ \mu$ de diamètre.

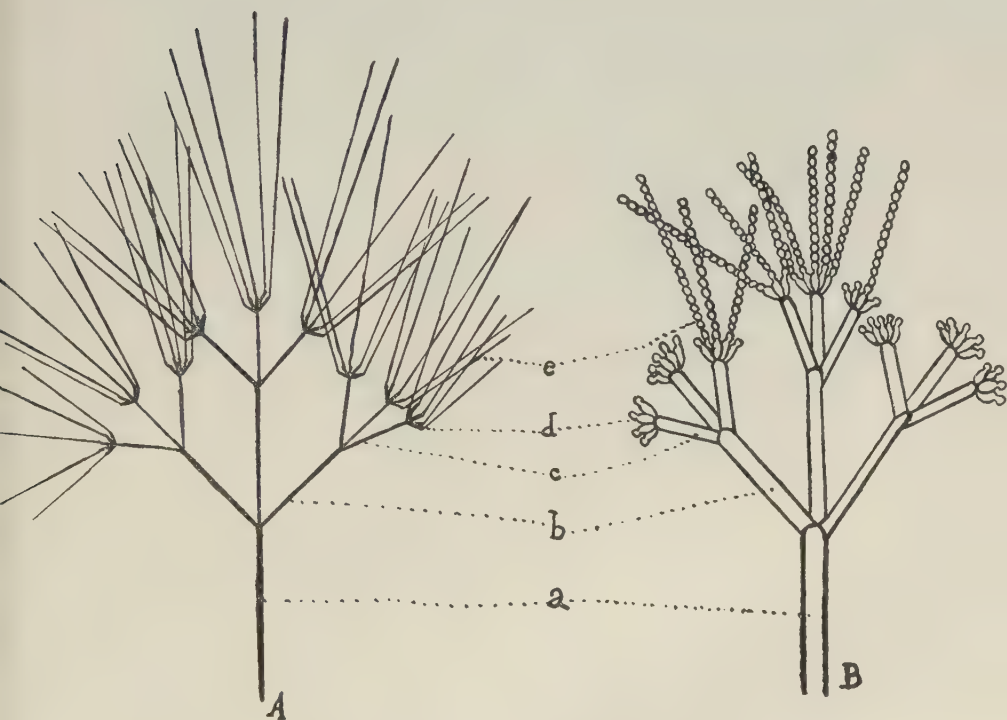
Les conidiophores sont longs, plus de $100\ \mu$ sur 3 à $4\ \mu$ de diamètre, ramifiés et à membranes lisses.

Le penicille, resserré à la base, a trois étages de ramifications; les premières branches, longues de 15 à $20\ \mu$, sont plus fines, $3\ \mu$ de diamètre, et sont groupées par 3, rarement par 5; les phyalides sont allongées, mesurent $8\ \mu$ de long sur $2\ \mu$ de large et sont groupées par 4 ou 5, elles sont très rapprochées à la base et divergent au sommet. Les chaînes conidiennes, longues et divergentes, s'embrouillent en vieillissant. Elles sont formées de conidies globuleuses, lisses,

vertes, d'environ 3 μ de diamètre. Absence de sclérotés et de périthèces.

Caractères culturaux. — Sur *carotte*, on obtient un enduit blanc floconneux passant au gris vert puis au vert foncé.

Sur *gélose de Sabouraud*, on a les mêmes colonies.



PENICILLIUM BREVI-COMPACTUM

A) Schéma d'un penicille ; B) Détail d'un penicille

a) Conidiophore ; b) Branches ; c) Métules ; d) Phyalides ; e) Conidies

Sur *moût de bière gélosé*, on voit des masses blanches épaisses au centre, cotonneuses à texture assez serrée et à bords fins et veloutés; la colonie prend une teinte verte au centre qui gagne les bords en passant au gris vert et au vert foncé. On remarque une zone blanche sur le pourtour de la colonie.

En *lame cellule* et en *chambre de culture*, la spore germe après avoir doublé de volume; elle émet un ou deux filaments qui reproduisent la moisissure comme nous venons de le décrire.

Les caractères d'identification et de culture que nous venons de donner, permettent de classer cette moisissure dans le groupe des *Penicillia Brevi-Compacta*.

Le tableau du groupe *Penicillium Brevi-Compactum* donné par Thom dans « *The Penicillia* », montre que, d'après les caractères suivants énoncés avec leurs numéros, nous avons à faire au *Penicillium Brevi-Compactum*, Dierckx-Biourge, 188.

Conidies globuleuses ou subglobuleuses (1).

Colonies formant rapidement des masses mycéliennes épaisses avec conidiophores longs (11).

Conidies environ 3 μ ; centre épais 1 mm. ou plus; bords étroits veloutés (111a).

L'organisme isolé peut donc être considéré comme le *Penicillium Brevi-Compactum* Dierckx, Biourge, 188, qui est aussi connu sous les noms de *Penicillium Paxilli*, Bainier, et de *Penicillium Stoloniferum*, Thom.

QUATRIÈME SOUCHE

Cette moisissure a été trouvée, elle aussi, sur des bouchons.

Caractères. — Mycélium ramifié et cloisonné; conidiophores droits, quelques-uns ramifiés portant des phyalides, avec chacune une chaîne de conidies globuleuses.

Ces caractères nous permettent de classer cette moisissure dans le groupe des Périsporiacées.

Nous allons donner maintenant les caractères détaillés de cette moisissure cultivée sur gélose de Czapeck.

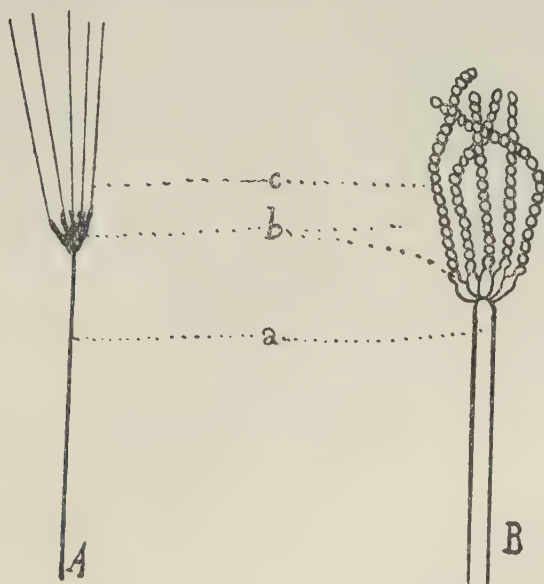
La colonie est incolore et passe lentement au vert; son envers est incolore. Elle s'étale pendant la croissance et ne présente pas de zones concentriques.

La colonie est floconneuse, inodore et ne sécrète aucun liquide; ses bords sont larges. Elle est formée de filaments rampants, minces, hyalins, de 2 à 3 μ de diamètre.

Les conidiophores sont ramifiés, droits, mesurent de 20 à 65 μ de long et ont des membranes lisses. Les penicilles sont monoverticillés, ils n'ont pas de metules et portent seulement un groupe de 3 à 10 phyalides de 6 μ de long.

Les chaînes conidiennes divergentes sont formées de conidies de 2 à 3 μ de diamètre, globuleuses, lisses, de couleur verte.

Absence de sclérotes et de périthèces.



CITROMYCES PFEFFERIANUS

A) Schéma d'un penicille ; B) Détail d'un penicille

a) Conidiophore ; b) Phyalides ; c) Conidies

Caractères cultureux. — Sur carotte, on obtient un enduit blanc crémeux qui, très rapidement, passe au vert, puis au vert olive foncé.

Sur gélose de Sabouraud et sur moût de bière gélosé, les colonies ont le même aspect.

En lame cellule et en chambre de culture, on remarque que la spore germe en un seul point, en émettant un fila-

ment qui, par allongement et cloisonnement, va reproduire la moisissure, telle que nous l'avons décrite.

Nous allons indiquer, avec leurs numéros d'ordre, les caractères qui nous ont servi pour identifier cette moisissure, d'après le tableau des *Penicillia Monoverticillata-Stricta* donné par Thom dans « *The Penicillia* ».

Sclérotés non relatés (1).

Colonie floconneuse avec développement plus ou moins extensif du mycélium aérien comme de simples filaments (III).

Surfaces conidiennes vertes ou bleu vert pendant la période de croissance (IV).

Conidies de moins de 4,5 μ pour le grand axe (VI).

Conidies globuleuses (X).

Conidies globuleuses moins de 4,5 μ (XII).

Envers de la colonie incolore ou partiellement coloré en rose dans quelques espèces, sans suintement coloré (XIII).

Envers incolore ou peu coloré en rose et même en jaune (XV).

Conidies globuleuses ou subglobuleuses apparemment lisses (XVI).

Conidies lisses ou sans marques à la surface (XVIII).

Conidies du vert au gris, 2, 3 à 2,8 μ de diamètre lisses (a).

Le tableau de Thom, dont nous venons de relater les lignes qui nous intéressent pour cette moisissure, nous indique que nous sommes en présence d'un *Penicillium* du groupe *Pfefferianus*.

Si nous suivons la classification de Thom, nous sommes conduit à identifier cet organisme avec le *Citromyces Pfefferianus*, 31, Wehmer (1).

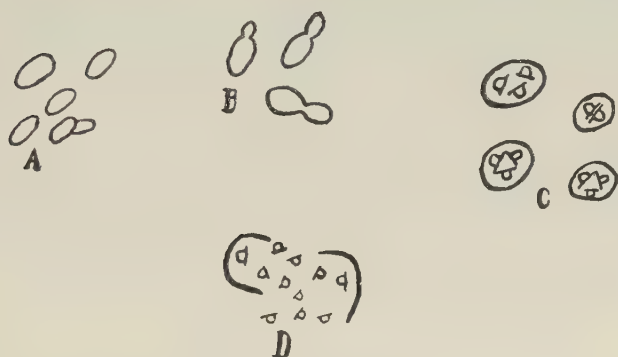
(1) Il semble que les auteurs ne soient pas tous d'accord sur la définition des *Citromyces*. Pour certains des auteurs actuels, il semble bien que le *Citromyces* corresponde à un organisme dont le conidiophore se renfle en bouteille et, la plupart du temps, ne porte qu'une seule conidie et parfois un chapelet de conidies. Quoi qu'il en soit, sans entrer dans ces discussions, nous nous sommes borné à suivre la classification récente de Thom.

CINQUIÈME SOUCHE

Cette levure a été trouvée sur des cachets de poudre de Surrénales et sur des bouchons.

Caractères. — Cellules ovales, dont quelques-unes portent à une extrémité un renflement de même forme que la cellule.

Caractères cultureux. — Sur *carotte*, enduit blanc cré-



WILLIA ANOMALA

A) Cellules levures ; B) Cellules en voie de déboullement ;
C) Asques ; D) Asques éclatés ayant libéré les ascospores.

meux, s'étendent avec rapidité sur le milieu nutritif. Après un mois et demi de culture, un examen microscopique montre que les cellules levures se sont transformées en asques et contiennent des ascospores en forme de chapeau.

Sur *gélose de Sabouraud*, même culture que sur *carotte*.

Sur *bouillon* et sur *moût de bière*, voile sec et ridé blanc.

En *lame cellule*, on remarque des cellules ovales se développant par bourgeonnement. La cellule émet un bourgeon qui augmente de volume, puis se sépare de la cellule mère par un resserrement à la base.

Sur *gélose pauvre*; sur ce milieu, les cellules ensemencées prolifèrent avec rapidité pendant les premiers jours de

la culture. Au bout d'une semaine, le développement s'arrête et les cellules, se trouvant dans de mauvaises conditions de développement, se transforment en asques; leur protoplasme se condense et s'entoure d'une membrane, on voit ainsi, dans chaque asque, de une à quatre ascospores qui ont une forme caractéristiques très nette, en forme de chapeau.

Cette levure n'a pas provoqué la fermentation des sucres tels que saccharose, glucose, lévulose, lactose et maltose.

Pour identifier cette levure, nous avons eu recours à la « Clef dichotomique pour la détermination des levures », de Guilliermond, dont nous allons donner les paragraphes qui nous ont servi, avec leurs numéros d'ordre :

Cellules levures rondes, ovales ou allongées, se multipliant par bourgeonnement, pouvant produire, mais seulement dans les vieilles cultures des rudiments mycéliens, dont les cellules sont facilement dissociables, rarement assez développés. Végétant sur moût de bière, dès le début, sous forme d'un dépôt ou sous forme d'un voile mycodermique fin ou d'un anneau. Cellules renfermant parfois un pigment rouge ou rose, exceptionnellement noir (A-5).

Levures produisant des asques (E-13).

Levures se multipliant par bourgeonnement typique, c'est-à-dire que le bourgeon est toujours relié à la cellule mère par un col très étroit (K-26).

Levures dont les asques ne dérivent pas de la copulation de deux cellules et se forment dans des cellules ordinaires n'essayant pas de se fusionner. Ascospores se fusionnant parfois 2 à 2 au moment de germer (M-33).

Cellules de formes variables, rondes, ovales, allongées sans aucun aspect caractéristique (O-42).

Levures végétant sur moût de bière dès le début sous forme d'un voile mycodermique. Ne donnent ordinairement qu'une faible fermentation de sucres et souvent même n'ont aucun pouvoir fermentatif, mais produisent en général des éthers à odeur aromatique. Ascospores de formes souvent caractéristiques, mises souvent en liberté par rupture de l'as-

que, elles germent par bourgeonnement, après avoir, en se gonflant, pris l'aspect d'une cellule végétative (R-43).

Ascospores hémisphériques germant par bourgeonnement (S-45).

Ascospores en forme de chapeau à rebord saillant. L'asque se déchire dès sa maturation et les ascospores, mises en liberté, apparaissent assemblées par petits groupes dans les vieilles cultures. La germination s'effectue par bourgeonnement ordinaire et le rebord saillant disparaît peu à peu; rarement elle est précédée de la conjugaison des ascospores (T-46).

Nous pouvons donc identifier cette levure au *Willia Anomala* (Hansen).

III. — Les organismes isolés présentent-ils quelque pouvoir pathogène ?

Pour répondre à cette question, nous avons procédé à un certain nombre d'expériences :

1° Nous conformant aux techniques habituelles utilisées dans les laboratoires de bactériologie, nous avons cherché si ces microbes produisaient, après injection dans les tissus musculaires et péritonéaux, des accidents généraux et locaux;

2° Nous avons voulu savoir si ces microbes, absorbés par le tube digestif, pouvaient déterminer des accidents. C'est bien évidemment ce deuxième essai qui nous donnera les meilleurs renseignements, étant donné l'emploi des produits que nous étudions.

A) ESSAIS PAR INJECTION

a) *Injection sous-cutanée à la cuisse.* — Dans des tubes de sérum physiologique, nous avons émulsionné chacune des cultures pures précédemment isolées, à raison d'une anse de platine pour 10 cc. Cette émulsion a été faite facilement pour les bactéries et la levure par le procédé ordinaire. Pour les bactéries du groupe *Subtilis*, nous avons utilisé des souches âgées de huit jours, afin d'avoir le plus grand nombre possible d'éléments sporulés. Pour l'émulsion de moisissure, étant donnée la difficulté de détacher toute la partie filamenteuse, nous nous sommes bornés à prélever le plus possible de filaments et la totalité des conidies et des spores.

Les injections hypodermiques ont été faites selon la technique habituelle. Le cobaye étant maintenu étendu sur le dos par un aide, une patte arrière est portée en abduction externe, la face antérieure est débarrassée de ses poils, puis nettoyée à l'alcool. L'injection a été faite avec une aiguille

de canal assez large et une seringue en verre, ces deux instruments étant préalablement stérilisés. Nous avons injecté à chaque essai 1 cc. d'émulsion. Les cobayes ont été replacés dans leurs cages respectives et surveillés chaque jour, tant pour les phénomènes locaux que pour les phénomènes généraux qu'ils pouvaient présenter. De plus, tous les deux jours, le poids des animaux a été noté.

Nous donnons, dans le tableau suivant, les indications de poids (poids initial et poids après trois semaines d'observa-

N°	SEXE	MICROBES ou MOISSISSURES	POIDS INITIAL	POIDS APRÈS 21 JOURS	GAIN
1	Mâle	Staphylocoque blanc.....	559 g.	614 g.	55 g.
2	Femelle	« citrin.....	494 g.	574 g.	70 g.
3	Mâle	« doré.....	425 g.	479 g.	54 g.
4	Femelle	Bacillus Subtilis.....	547 g.	627 g.	80 g.
5	«	« Simplex.....	444 g.	525 g.	81 g.
6	Mâle	« Mesentericus.....	415 g.	480 g.	65 g.
7	«	« souche VII.....	421 g.	474 g.	53 g.
8	Femelle	« « VIII.....	538 g.	622 g.	84 g.
9	Mâle	Willia anomala.....	447 g.	622 g.	75 g.
10	Femelle	Mucor racemosus.....	512 g.	592 g.	80 g.
11	«	Aspergillus amstelodami.....	480 g.	545 g.	65 g.
12	Mâle	Penicillium brevi-compactum..	495 g.	565 g.	70 g.
13	«	Citromyces pfefferianus.....	530 g.	595 g.	65 g.

tion). Nous constatons aussi que tous ces animaux ont augmenté de poids. Aucun d'eux n'a présenté d'accidents, ni locaux, ni généraux; la petite blessure, produite par la piquûre, s'est cicatrisée rapidement et nous n'avons pas observé de gonflement de ganglions. A aucun moment de l'expérience, les animaux n'ont perdu l'appétit, ni l'activité.

b) *Injection sous la peau du ventre.* — Désirant obtenir de l'organisme une absorption beaucoup plus grande des éléments microbiens, nous avons effectué cette deuxième série d'expériences comme il est indiqué pour le bacille tuberculeux (Dopter et Sacquépée (11)). Nous avons utilisé les émulsions précédentes. Nous avons préparé l'animal et les instruments comme il est dit plus haut. L'injection a été faite au voisinage du péritoine en enfonçant l'aiguille sous la peau du ventre, après avoir tendu et soulevé cette dernière.

Dans cette seconde série d'essais, nous n'avons, pas plus que dans la première série, constaté de phénomènes morbides généraux ou locaux. Les cobayes ont augmenté de poids comme le montre le tableau suivant :

N ^o	SEXE	MICROBES ou MOISSURES	POIDS INITIAL	POIDS APRÈS 21 JOURS	GAIN
1	Femelle	Staphylocoque blanc.....	533 g.	598 g.	65 g.
2	Mâle	« citrin.....	477 g.	534 g.	57 g.
3	Femelle	« doré.....	430 g.	483 g.	53 g.
4	Mâle	Bacillus Subtilis.....	503 g.	552 g.	49 g.
5	«	« Simplex.....	520 g.	594 g.	74 g.
6	Femelle	« Mesentericus.....	495 g.	575 g.	80 g.
7	«	« souche VII.....	470 g.	538 g.	68 g.
8	Mâle	« souche VIII.....	480 g.	550 g.	70 g.
9	Femelle	Willia anoma'a.....	505 g.	560 g.	55 g.
10	Mâle	Mucor racemosus.....	540 g.	617 g.	77 g.
11	«	Aspergillus amstelodami.....	450 g.	513 g.	63 g.
12	Femelle	Penicillium brevi-compactum..	445 g.	513 g.	68 g.
13	«	Cytromyces pfefferianus.....	490 g.	565 g.	75 g.

B) *ESSAIS PAR INGESTION*

Nous avons tout d'abord pensé à administrer, aux animaux d'expérience, par la voie buccale, des quantités variables de poudres d'organes, de façon à nous trouver dans les conditions mêmes de la pratique. Nous avons renoncé à utiliser ce procédé, ne voulant pas soumettre nos animaux aux actions toxiques connues et inconnues que causent par elles-mêmes les poudres d'organes. Il est bien certain que ces animaux pourraient être sensibles à des doses, même relativement petites, de substances actives surréniennes, thyroïdiennes, etc. Nous avons donc fait ingérer par nos animaux d'expérience les microbes en cause. En opérant ainsi, nous nous sommes placés volontairement dans des conditions exceptionnellement mauvaises, tout à fait irréalisables dans la pratique thérapeutique.

Deux centimètres cubes des émulsions précédentes ont été dilués au 1/5 avec 8 cc. de sérum physiologique. Ces 10 cc. ont été malaxés avec la quantité de son donnée ordinairement aux animaux d'expérience. Si nous tenons compte de la perte de cette nourriture, perte causée par les animaux eux-mêmes (son souillé par les excréments, son projeté dans des endroits inaccessibles de la cage), nous pouvons considérer que la moitié au moins (1 cc.) de l'émulsion microbienne mise en jeu aura été ingérée par les cobayes. Les animaux ont été ensuite nourris de façon normale pendant huit jours. Au huitième jour, ils ont absorbé de nouveau une même quantité de son expérimentalement contaminé, et ils ont été remis en observation. Quinze jours après le début de cet essai, aucun des cobayes n'a présenté de phénomènes généraux ou locaux. Nous n'avons noté aucune baisse de poids, aucun symptôme de diarrhée, aucune perte d'appétit ou d'activité.

Dans le tableau suivant, nous donnons les poids des cobayes, poids du début et de la fin de l'expérience :

N°	SEXE	MICROBES ou MOISSURES	POIDS INITIAL	POIDS APRÈS 15 JOURS	GAIN
1	Femelle	Staphylocoque blanc	598 g.	628 g.	30 g.
2	Mâle	« citrin.	534 g.	568 g.	34 g.
3	Femelle	« doré.	483 g.	510 g.	27 g.
4	Mâle	Bacillus Subtilis	552 g.	581 g.	29 g.
5	«	« Simplex.	594 g.	619 g.	25 g.
6	Femelle	« Mesentericus.	575 g.	607 g.	32 g.
7	«	« souche VII.	538 g.	575 g.	37 g.
8	Mâle	« souche VIII.	550 g.	575 g.	25 g.
9	Femelle	Willia anomala	560 g.	592 g.	32 g.
10	Mâle	Mucor racemosus	617 g.	640 g.	23 g.
11	«	Aspergillus amstelodami	513 g.	558 g.	45 g.
12	Femelle	Penicillium brevi-compactum..	513 g.	552 g.	39 g.
13	«	Citromyces pfefferianus	565 g.	593 g.	38 g.

De tous ces essais, effectués pour mettre en évidence le pouvoir pathogène des organismes isolés, nous pouvons conclure que, ni par injection, ni par ingestion, ces organismes n'ont donné lieu à des troubles morbides. Il nous semble curieux que les essais par injection n'aient pas produit localement des phénomènes d'irritation de tissus ou de formation de pus. En effet, si nous sommes bien certains que les organismes du groupe Subtilis ne sont pas pathogènes, nous pensons que les cocci du groupe Staphylocoque auraient pu présenter quelques propriétés pyogènes. Pourtant, si nous pensons aux rôles que jouent, dans l'infection des blessures, les traumatismes, les mortifications tissulaires, les lésions vasculaires et nerveuses, nous comprenons mieux l'absence de phénomènes morbides dans nos expériences d'injection effectuées sans qu'il y ait lésion notable de l'organisme animal.

Les résultats de nos essais de contamination par inges-

tion nous semblent tout à fait normaux. Les microorganismes que nous avons isolés des poudres d'organes (cocci, bactéries du groupe *Subtilis*, levure et moisissures) ne sont que des microorganismes ordinaires toujours présents dans l'air, l'eau et les poussières, ne possédant à priori, par introduction normale dans l'intestin, aucun pouvoir pathogène. Ceci est tellement vrai que nous avons retrouvé dans le son que nous avons couramment donné à nos animaux d'expérience, ainsi que dans d'autres poudres alimentaires telles que le sucre, la farine, etc., les mêmes bactéries et dans des proportions sensiblement voisines. Ce point particulier, fort important, sera examiné plus amplement dans le deuxième chapitre.

Nous tenons à faire remarquer ici que, parmi la flore microbienne non pathogène que nous avons trouvée dans les produits opothérapiques, figurent des microbes qui ont été déjà trouvés : par Sartory et Langais (26), en 1912, dans les poussières et dans l'air; par Burnet (5), en 1917, dans les poussières. D'autre part, Martelly (23), dans sa thèse (Paris, 1902), indique quels sont les microbes responsables de la putréfaction et signale que le premier microbe qui apparaît est le *Staphylocoque*, bientôt suivi de bacilles aérobies divers, puis de bacilles anaérobies.

IV. — Numération des microbes contenus dans les poudres d'organes

Après avoir isolé et identifié les microorganismes contenus dans les poudres d'organes bien préparées et bien conservées, après avoir démontré qu'ils n'ont pas de pouvoir pathogène, nous avons voulu connaître leur nombre. Pour ceci, nous avons procédé à la numération des microbes dans un poids donné des poudres d'organes que nous avons étudiées. Au laboratoire de M. RÉGNIER, diverses techniques de numération des bactéries ont été utilisées pour l'étude de la multiplication microbienne. Etant donnés le but que nous poursuivons et les milieux formés de débris cellulaires et de résidus divers sur lesquels nous avons travaillé, nous avons à priori renoncé à la numération directe microscopique des germes. Nous avons donc été obligé de suivre la méthode classique de numération des colonies développées sur un milieu de culture solidifié. Nous avons utilisé la technique exposée dans les thèses de M. David (10) et de Mme Kaplan (19).

Numération des colonies sur plaque de gélose

Tous nos essais ont été effectués sur bouillon gélosé, préparé de la façon décrite plus haut. Après quelques essais préliminaires, nous nous sommes ralliés à la technique suivante. Des quantités exactement pesées (0,10 g.) de poudre d'organes étaient introduites dans des tubes contenant 10 cc. de sérum physiologique stérile, munis chacun d'une dizaine de petites billes de verre. Nous avons procédé aussitôt, pendant environ un quart d'heure, à des agitations vives dans tous les sens, de façon à rendre l'émulsion aussi homogène que possible et à séparer les microbes les uns des autres. Pendant ce temps, des tubes de gélose, fondue par un séjour préalable au bain-marie bouillant, étaient main-

tenus dans un bain d'eau à +45°C pour conserver la gélose en surfusion. Par l'intermédiaire de pipettes Levaditi stériles, des quantités variables d'émulsion de poudre d'organes ont été portées dans les tubes de gélose en surfusion. Le mélange a été fait par agitations circulaires vives, puis la gélose ainsiensemencée a été coulée dans des boîtes de Petri stériles. Ces boîtes ont été ensuite placées dans l'étuve à +37°C, chaque boîte étant posée de telle manière que la surfaceensemencée soit à la partie supérieure, afin d'éviter la condensation de l'eau qui, non seulement modifierait la constitution de la gélose, mais gênerait le développement normal des colonies. Ces boîtes ont été examinées chaque jour jusqu'à ce que toutes les colonies soient développées. A partir du cinq ou sixième jour, il n'apparaissait plus de colonies nouvelles; nous avons pourtant cru bon d'attendre le huitième jour pour faire, à la loupe, la numération définitive des colonies développées sur les plaques de gélose.

Après avoir effectué des essais préliminaires, nous avons toujours choisi le volume d'émulsion à ensemençer (0,1-0,2-0,3-0,4 cc.), de telle sorte que le nombre maximum des colonies soit relativement faible, au maximum voisin de 50. Nous avons pu ainsi, sans difficulté, procéder à la numération totale des colonies. Pour chaque poudre, nous avons ensemençé avec la même quantité d'émulsion trois bouillons gélosés en boîte de Pétri; nous avons obtenu, pour chacun de ces trois essais, des résultats du même ordre de grandeur.

Dans ces essais, nous avons rencontré un certain nombre de difficultés :

1° Il faut effectuer l'examen de l'émulsion aussitôt que possible après l'agitation. En effet, au bout de quelques minutes de repos, les particules de poudre gagnent le fond du tube et entraînent certainement des microbes dans leur sédimentation.

2° L'existence de bacilles du groupe Subtilis, capables de donner des voiles, a été assez souvent gênante. Le *Bacillus Mesentericus*, en particulier, nous a presque toujours

donné un voile envahissant capable de recouvrir très rapidement tout ou partie de la gélose. Il nous a donc fallu procéder à des numérations systématiques journalières dès que l'aspect d'une colonie pouvait nous faire supposer l'existence d'un bacille aérobie sporulé. Nous avons pu ainsi connaître le nombre de toutes les colonies développées dans les premiers jours, et, seules, les colonies beaucoup moins nombreuses qui ne se développent que tardivement, ont pu nous échapper. D'autre part, chaque essai comportait trois boîtes et nous n'avons jamais eu de voiles sur toutes les boîtes. Dans les essais les moins favorables, nous avons toujours pu examiner au moins une boîte au huitième jour et avoir ainsi une confirmation des chiffres obtenus dans les deux autres essais.

Nous donnons, dans le tableau suivant, sans insister sur chaque cas en particulier, les résultats de ces essais. A côté des indications qui permettent de reconnaître chaque poudre en se reportant au tableau général du début de ce chapitre, nous donnons : la quantité finalement ensemencée dans chaque boîte de Pétri, le nombre de colonies correspondant aux microbes contenus dans cette quantité et le nombre de bactéries par gramme de poudre d'organes que l'on peut déduire de ces chiffres.

NUMÉROS DES POUDRES D'ORGANES	QUANTITÉS DE POUDRES ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES DÉVELOPPÉES sur les plaques de gélose	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Poudre d'ovaires 1.....	0 g. 002	Boite I = 13 » II = 8 » III = 10	5.000
Poudre d'ovaires 2.....	0 g. 002	Boite I = 10 » II = 5 » III = 7	3.500
Poudre d'ovaires 3.....	0 g. 004	Boite I = 6 » II = 0 » III = 3	750
Poudre d'ovaires 4.....	0 g. 004	Boite I = 3 » II = 5 » III = 10	1.500
Poudre d'ovaires 5.....	0 g. 002	Boite I = 8 » II = 8 » III = 5	3.500
Poudre d'ovaires 6.....	0 g. 002	Boite I = 16 » II = 11 » III = 13	7.000
Poudre d'ovaires 7.....	0 g. 002	Boite I = voile » II = 14 » III = 15	7.000
Poudre d'ovaires 8.....	0 g. 002	Boite I = 16 » II = 10 » III = 12	6.500
Poudre d'ovaires 9.....	0 g. 002	Boite I = 15 » II = 16 » III = 11	7.000
Poudre d'ovaires 10.....	0 g. 002	Boite I = 13 » II = 13 » III = 14	6.500
Poudre d'ovaires 11.....	0 g. 002	Boite I = 10 » II = 21 » III = 15	7.500
Poudre de surrénales 12..	0 g. 002	Boite I = 12 » II = 13 » III = 10	6.000
Poudre de surrénales 13..	0 g. 002	Boite I = 7 » II = 13 » III = 9	5.000
Poudre de surrénales 14..	0 g. 004	Boite I = 4 » II = 6 » III = 5	1.250
Poudre de surrénales 15..	0 g. 001	Boite I = 6 » II = 12 » III = 4	8.000

NUMÉROS DES POUDRES D'ORGANES	QUANTITÉS DE POUDRES ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES DÉVELOPPÉES sur les plaques de gélose	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Poudre de surrénales 16 .	0 g. 002	Boîte I = 14 » II = 16 » III = voile	7.500
Poudre de surrénales 17 .	0 g. 005	Boîte I = 9 » II = voile » III = 10	1.800
Poudre de surrénales 18 .	0 g. 002	Boîte I = 10 » II = 11 » III = 14	5.800
Poudre de surrénales 19 .	0 g. 002	Boîte I = voile » II = 16 » III = voile	8.000
Poudre de surrénales 20 .	0 g. 002	Boîte I = 12 » II = 17 » III = 13	7.000
Poudre de surrénales 21 .	0 g. 002	Boîte I = 17 » II = 16 » III = 18	8.500
Poudre de thymus 22....	0 g. 001	Boîte I = 21 » II = 16 » III = 9	15.300
Poudre de thymus 23....	0 g. 001	Boîte I = 27 » II = 26 » III = 54	35.600
Poudre de thymus 24....	0 g. 005	Boîte I = voile » II = 10 » III = 11	2.000
Poudre de thyroïdes 25 ..	0 g. 001	Boîte I = 16 » II = 22 » III = 18	18.300
Poudre de thyroïdes 26 ..	0 g. 001	Boîte I = 21 » II = 12 » III = 13	15.300
Poudre d'hypophyses 27 .	0 g. 002	Boîte I = 10 » II = 9 » III = 14	5.500
Poudre de pancréas 28 ..	0 g. 0005	Boîte I = 40 » II = 18 » III = 35	62.000
Pepsine 29	0 g. 001	Boîte I = 0 » II = 6 » III = 10	5.000

D'après les chiffres du tableau précédent, nous pouvons tirer les données générales suivantes. En se basant sur le nombre de microbes par gramme de poudre, nous pouvons obtenir une classification des poudres d'organes : d'abord les poudres d'ovaires qui contiennent en moyenne 5.000 microbes; puis les poudres de surrénales avec un nombre sensiblement analogue, en moyenne 6.000; ensuite les poudres de thymus et de thyroïdes avec un nombre nettement plus élevé, voisin de 16.000; enfin les produits dont nous n'avons étudié qu'un seul échantillon : poudre d'hypophyses et pepsine, 5.000, et poudre de pancréas dont le nombre de microbes est très élevé, 62.000.

Nous devons maintenant signaler un point important. Considérant, parmi les nombreux échantillons analysés de poudres d'ovaires et de surrénales, ceux qui contiennent la plus petite quantité de microbes (poudre d'ovaires 3 et 4, poudre de surrénales 14), nous constatons que ces produits sont les plus anciens. Alors que les autres échantillons avaient été conservés pendant un à six mois, les numéros 3 et 4 dataient, respectivement, de 2 et 5 ans, et le numéro 14 de 5 ans. Ces produits, conservés depuis fort longtemps en cachets, ont été précisément ceux sur lesquels nous avons isolé les moisissures; seul, le numéro 3 se présentait en cachets non avariés.

Nous avons déjà remarqué que les microbes trouvés appartiennent à deux groupes bien distincts : les cocci du groupe *Staphylocoque* et les bacilles sporulés du groupe *Subtilis*. Nous pouvons, d'après les résultats de nos essais, dire que les cocci représentent environ 70 à 85 p. 100 de la totalité des microbes dénombrés.

Si nous considérons le tableau donnant les caractères des produits étudiés, nous voyons que ces produits proviennent de glandes fraîches ou « frigorifiées à cœur », deséchées suivant trois procédés différents.

Dans le tableau suivant, nous indiquons la quantité de microbes par gramme de produit suivant l'origine des glandes :

GLANDES FRIGORIFIÉES		GLANDES FRAICHES	
NUMÉROS DE LA POUDRE	NOMBRE DE MICROBES	NUMÉROS DE LA POUDRE	NOMBRE DE MICROBES
Poudre d'ovaires 1.....	5.000	Poudre d'ovaires 8.....	6.500
Poudre d'ovaires 2.....	3.500	Poudre d'ovaires 9.....	7.000
Poudre d'ovaires 5.....	3.500	Poudre d'ovaires 10.....	6.500
Poudre d'ovaires 6.....	7.000	Poudre d'ovaires 11.....	7.500
Poudre d'ovaires 7.....	7.000		
Poudre de surrénales 12..	6.000	Poudre de surrénales 18..	5.800
Poudre de surrénales 13..	5.000	Poudre de surrénales 19..	8.000
Poudre de surrénales 15..	8.000	Poudre de surrénales 20..	7.000
Poudre de surrénales 16..	7.500	Poudre de surrénales 21..	8.500

Nous pouvons remarquer que l'origine de la glande n'a aucune influence sur le résultat obtenu.

Nous remarquons de même que, suivant les différents procédés de dessiccation, on obtient des chiffres sensiblement identiques. Nous en donnons un exemple dans le tableau suivant :

NUMÉROS	MODE DE DESSICATION	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Poudre d'ovaires 8.....	Courant d'air	6.400
Poudre d'ovaires 9.....	Vide vers + 35° C.	7.000
Poudre d'ovaires 11.....	Vide sulfurique	7.500
Poudre de surrénales 18..	Courant d'air	5.800
Poudre de surrénales 20..	Vide vers + 35° C.	7.000
Poudre de surrénales 21..	Vide sulfurique	8.500

CHAPITRE II

ORIGINE DES MICROORGANISMES MODIFICATION DE LA FLORE MICROBIENNE AUX DIFFÉRENTS TEMPS DE LA PRÉPARATION DES POUDRES D'ORGANES

Dans le premier chapitre, nous avons identifié et dénombré les microorganismes qui existent dans les produits opothérapiques. Nous nous trouvons maintenant en présence de deux questions nouvelles :

1° *Quelle est l'origine de ces microorganismes ?* — En effet, il nous faut savoir si ces microorganismes proviennent de l'animal lui-même ou d'une contamination extérieure. Il est possible de concevoir que les microbes trouvés dans les produits, ou tout au moins certains d'entre eux, aient pu être apportés dans la glande par la circulation des humeurs de l'animal, car il est de notion courante que, dès la mort, l'envahissement du sang par les microbes, principalement par ceux des organes intestinaux, se fait très rapidement. Les microbes trouvés nous semblent cependant provenir de l'extérieur, car nous n'avons rencontré, ni des microbes du groupe coli-bacille, ni des microbes anaérobies; il est cependant nécessaire d'apporter la preuve directe de l'origine extérieure des microorganismes trouvés.

2° *Quelle que soit l'origine de ces microbes, comment seront-ils modifiés en qualité ou en quantité pendant les différentes phases de la préparation des poudres ?* — Avant d'aborder l'étude de ces deux questions, nous pensons qu'il est utile d'exposer les phases de la préparation de ces produits depuis la récolte de ces organes jusqu'à l'utilisation de ces médicaments opothérapiques.

I. — Préparation des poudres d'organes

Comme pour tous les médicaments galéniques la préparation des poudres d'organes est régie par le Codex constitué de l'édition officielle (1908), complétée par les divers suppléments (1920 - 1923 - 1928 - 1931). Au sujet des médicaments opothérapiques il n'a pas paru depuis 1908 de supplément officiel au Codex s'occupant de leur préparation. Nous sommes donc encore régis par l'article du Codex 1908. Cependant, étant donné les progrès réalisés dans la préparation de ces produits, nous verrons que le Codex 1908 n'a plus, à ce sujet, le sens directeur qu'il avait à l'origine. Cela est si vrai, qu'une des sous-commissions du Codex (la 14^e), composée en partie de techniciens ayant contribué à l'amélioration de la préparation de ces produits, a présenté, dans son rapport de 1925, un projet de modification de l'article du Codex, en tenant compte des progrès réalisés depuis 1908. Il nous semble intéressant d'exposer, d'une part, le texte officiel de 1908 et d'autre part, le projet de 1925. Après avoir exposé ces deux articles et avoir montré leurs différences, nous examinerons en détail les techniques utilisées en fait dans les laboratoires opothérapiques.

A) CODEX 1908.

A la page 548, nous trouvons sous le titre « poudres d'organes » les lignes suivantes qui ne concernent que les produits qui doivent être absorbés par voie buccale.

« Prélevez les organes dans des conditions d'asepsie
« rigoureuses aussitôt après l'abattage de l'animal. Débar-
« rassez-les des tissus étrangers (annexes, graisses, etc...)
« qui les accompagnent ; lavez-les ensuite avec de l'eau
« stérilisée et saturée de chloroforme, dans laquelle vous
« les maintiendrez plongés jusqu'au moment où vous les
« utiliserez.

« Divisez et pulpez ces organes, après les avoir essuyés
« entre plusieurs feuilles de papier de soie stérilisé. Etalez
« en couche mince, dans une cuvette peu profonde, la
« pulpe ainsi obtenue et desséchez-la dans le vide en présence
« de l'acide sulfurique, ou à l'abri des poussières de l'air,
« dans une étuve dont la température ne dépasse pas + 40° C.

« Pulvérissez et passez au tamis n° 40.

« *Observations.* Tous les vases et ustensiles doivent être
« stérilisés au préalable.

« Lorsque le tissu de l'organe contiendra des matières
« grasses dont il n'aura pas été possible de le débarrasser
« mécaniquement, il sera nécessaire, pour les éliminer, de
« traiter par l'éther la pulpe desséchée. Lorsque les dernières
« traces de ce dissolvant seront évaporées à l'air libre, pulvé-
« risez la pulpe et tamisez. Cette opération facilite la conser-
« vation du produit ».

B) RAPPORT DE LA 14^e SOUS-COMMISSION DU CODEX A LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE.

Dans son rapport, la 14^e sous-commission du Codex définit comme suit les poudres d'organes.

« Les poudres d'organes résultent de la dessiccation, par
« des méthodes appropriées, de préférence dans le vide
« à basse température, de pulpes d'organes. Dans un certain
« nombre de cas, qui seront précisés plus loin, il peut être
« utile de soumettre la pulpe desséchée à un traitement par
« des solvants déterminés (éther ou éther de pétrole).

« Les organes entrant dans la préparation de ces produits
« proviennent d'animaux sains convenablement choisis. Ils
« sont recueillis avec la plus grande propreté et traités
« immédiatement après abattage. A cet effet, ils sont préala-
« blement débarrassés des tissus étrangers et des débris
« divers qui les accompagnent, puis divisés et pulpés.

« On pourra utiliser les organes, de provenance étran-
« gère, frigorifiés « à cœur » et transportés à une tempé-
« rature de — 7, — 8° C.

« Le produit officinal est constitué par cette poudre, sans
« aucune addition de substances étrangères destinées, soit
« à assurer la conservation des organes frais pendant leur
« transport de l'abattoir au laboratoire (antiseptiques, sels
« divers), soit à faciliter la dessiccation ou la pulvérisation
« des pulpes (poudres inertes, sucre, sciure de bois, etc...).

« Les poudres d'organes doivent être conservées en flacons
« secs, bien bouchés, paraffinés, à l'abri de la lumière et
« de l'humidité. Il est avantageux d'utiliser, dans ce but,
« des flacons exsiccateurs, munis d'un bouchon à l'émeri
« creux, renfermant de la chaux ».

Si nous comparons l'article du Codex et le rapport de la sous-commission, nous voyons que ce dernier fait subir au texte officiel de profondes modifications, que nous allons indiquer dans le tableau suivant :

	CODEX 1908	RAPPORT DE LA SOUS-COMMISSION EN 1925
Choix de l'animal.		Animaux sains convenablement choisis.
Prélèvement.	Dans des conditions d'asepsie rigoureuses aussitôt après l'abattage de l'animal.	Avec la plus grande propreté.
Conservation des organes prélevés.	Dans de l'eau chloroformée pendant le temps très court du transport des abattoirs à l'usine.	Traités immédiatement après abattage, possibilité d'employer des organes frigorifiés « à cœur ».
Mode de dessiccation.	Dans le vide en présence d'acide sulfurique ou dans une étuve à moins de + 40° C.	Par des méthodes appropriées, de préférence dans le vide à basse température.
Conservation.		En flacons secs, bouchés, paraffinés, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

C) TECHNIQUES UTILISÉES EN PRATIQUE.

Ayant exposé le point de vue officiel du Codex 1908 et celui de la sous-commission du Codex, nous allons indiquer maintenant les différentes techniques qui sont utilisées en

fait. Pour plus de commodité, nous suivrons l'ordre des manipulations, en exposant pour chacune les procédés différents qui sont employés et en donnant tous les détails qui sont susceptibles de nous intéresser dans le problème que nous étudions.

1° *Choix de l'animal* (1)

Suivant l'organe à employer, l'espèce animale varie, ainsi on s'adresse de préférence au mouton ou au bœuf pour le corps thyroïde ; à la brebis ou à la génisse pour l'ovaire ; au cheval ou au bœuf pour les capsules surrénales ; au porc pour l'estomac, le foie et l'intestin ; au cheval pour le sérum. On doit aussi tenir compte de l'âge de l'animal, parce que le développement des organes en dépend. Ainsi, les organes génitaux seront prélevés sur des animaux adultes ; le thymus chez les jeunes ; la moelle osseuse exclusivement chez le fœtus.

2° *Récolte.*

Les organes fournis aux fabricants peuvent avoir diverses origines :

a) *Organes provenant d'abattoirs voisins des usines et transportés peu de temps après la récolte.* Le prélèvement des organes est fait dans les échaudoirs par les bouchers, aussitôt après l'abattage de l'animal. Les organes sont ensuite centralisés par un ramasseur qui procède au triage, à l'épluchage et au lavage avant de livrer aux fabricants.

Ces organes sont employés aussitôt après leur arrivée, il est évident que ces glandes, qui n'ont pas eu à supporter un long transport, qui n'ont pas subi de variations sensibles de température et qui sont traitées rapidement, donnent de très bons produits.

(1) On trouvera, dans l'article publié par M. Choay dans la « Pharmacie Française », « La Préparation des extraits opothérapiques » (année 1922, p. 362), des indications plus détaillées, qui restent encore tout à fait valables au moment où nous écrivons.

b) *Organes provenant d'abattoirs lointains.* Ces organes qui ont voyagé pendant un temps relativement court, rarement plus de 48 heures, sont très souvent altérés et ont parfois déjà subi un début d'autolyse, ce qui les rend inutilisables. Afin de les conserver en bon état, on emploie en général deux procédés : l'un consiste à les faire voyager dans des antiseptiques ou des poudres inertes, ce procédé est d'ailleurs condamné par le rapport de la sous-commission du Codex ; l'autre consiste à les conserver dans de la glace, ce procédé donne des produits peu altérés et n'ayant pas encore subi l'autolyse, cependant nous croyons, ainsi que de nombreux auteurs, qu'il vaut mieux s'abstenir d'employer des glandes ainsi conservées.

c) *Organes provenant de pays étrangers.* La production française de glandes étant insuffisante, vu l'emploi généralisé des poudres d'organes, on est obligé d'employer dans les laboratoires opothérapiques des organes frigorifiés « à cœur » et provenant principalement d'Amérique du Sud et de Madagascar. Ces organes voyagent dans des chambres frigorifiques et arrivent en très bon état de conservation. Ils permettent d'obtenir des produits d'une valeur thérapeutique réelle, ce qui peut être facilement démontré par les dosages de l'adrénaline dans la poudre de surrénales et de la thyroxine dans la poudre de thyroïdes.

3° *Epluchage.*

Les glandes, à leur arrivée au laboratoire, sont en général débarrassées de leurs annexes, mais il est bon de vérifier et de compléter ce travail, s'il y a lieu.

4° *Pulpage.*

Les glandes ainsi débarrassées de leurs annexes sont broyées dans des hachoirs mécaniques et réduites en une pâte ou pulpe. C'est cette pulpe qui doit être débarrassée de son eau par un procédé de dessiccation n'altérant pas la glande et lui conservant son activité physiologique.

5° *Dessication.*

Les extraits totaux ou poudres d'organes sont simplement des pulpes privées d'eau. Il faudra, dans leur préparation, réduire les manipulations au strict minimum, afin d'éviter la décomposition des organes pulpés.

Il existe quatre procédés, dont trois seulement sont utilisés fréquemment :

a) *Utilisation du vide et de la chaleur.* La pulpe de glande est étalée sur des plateaux en métal en couche relativement mince ; ces plateaux sont placés dans un appareil à fermeture hermétique, contenant des tables chauffantes à l'intérieur desquelles circule un courant d'eau chaude ; cet appareil est relié à une pompe à vide, capable de produire un vide profond. Lorsque la pulpe a été introduite dans l'appareil, on fait le vide et en même temps on réchauffe l'appareil jusqu'à environ $+35^{\circ}$ rarement au-dessus, mais on ne laisse jamais atteindre $+50^{\circ}$. On obtient ainsi rapidement une pulpe privée d'eau qui se présente sous forme d'un gâteau boursouflé, très friable.

b) *Utilisation du vide en présence d'acide sulfurique.* Ce deuxième procédé est basé sur ce principe qu'il faut laisser le moins longtemps possible les produits contenant des ferments sous l'action de la chaleur (1). Dans ce procédé, on provoque une évaporation rapide par l'action combinée :

1° D'une pompe donnant un vide profond, 1 mm. environ ;

2° De substances avides d'eau, telles que l'acide sulfurique, capables d'absorber les vapeurs au fur et à mesure de leur production. Dans ces conditions, l'appareil qui renferme les pulpes se couvre de givre, accusant ainsi une « baisse de température peu favorable à l'autolyse ». Les organes pulpés sont étalés en couche mince et, sous la double

(1) CHOAY (E.) : « Influence du mode de préparation sur l'activité des extraits opothérapiques », « Jour. pharm. et Ch. », 1908, t. xxviii, p. 56.

action du vide et de l'acide sulfurique, donnent des gâteaux volumineux, spongieux et friables.

c) *Utilisation d'un courant d'air sec et froid* (1). Ce troisième procédé cherche à obtenir une dessiccation rapide à basse température, sans l'emploi du vide. La pulpe est étalée avec soin en couches très minces sur des plaques de verre strié qui sont placées à la partie supérieure d'une armoire. Cette armoire est divisée en deux parties : à la partie supérieure se trouvent des glissières sur lesquelles on place les plaques ; à la partie inférieure, des tuyaux de fonte dans lesquels une machine frigorifique produit une détente continue d'ammoniaque, provoquant ainsi un abaissement de température qui atteint -10° C.; sur le côté de cette armoire, un ventilateur, produisant un déplacement d'air de 35 mc. à la minute, envoie de l'air sur les plaques. Cet air se sature d'humidité en passant sur la pulpe étalée à la partie supérieure de l'armoire ; il passe ensuite à la partie inférieure sur les tubes dont la température est de -10° C. ; il se débarrasse de l'eau qu'il contient par condensation sur les tubes sous forme de givre et se dessèche ainsi complètement. Il passe ensuite sur un radiateur qui le réchauffe à environ $+5^{\circ}$ C., avant de le renvoyer sur les pulpes où le cycle recommence jusqu'à dessiccation complète de la pulpe, ce qui demande environ 4 heures. La pulpe sèche se présente sous la forme d'une mince pellicule qui se détache facilement des plaques.

d) *Utilisation de la chaleur*. Il existe un quatrième procédé, qui consiste à dessécher la pulpe dans une étuve chauffée et dont la température ne dépasse pas $+40^{\circ}$ C. ; ce procédé, dont le principe figure au Codex 1908, n'est plus employé à l'heure actuelle.

(1) SARTORY, SCHEFFER, PELISSIER et VAUCHER : « Procédé d'évaporation, de concentration et de dessiccation de toutes substances organiques ou minérales ». « Bull. Acad. Sc. », 1921, t. 172, p. 744.

6° *Conservation des pulpes.*

Suivant les fabricants, les pulpes sèches sont conservées différemment : les uns les conservent dans des récipients clos à l'abri de l'humidité ; d'autres les conservent dans le vide ; enfin d'autres les conservent dans des étuves chauffées à environ $+30^{\circ}$ C., afin de chasser totalement l'humidité que ces pulpes auraient pu prendre lors de leur sortie de l'appareil. De toute façon, on constate que les fabricants prennent un soin particulier, non seulement pour priver d'eau les pulpes, mais encore pour empêcher ces pulpes de fixer l'humidité de l'atmosphère.

7° *Délipoïdation.*

Les pulpes sèches obtenues avec certaines glandes contiennent une assez grande quantité de corps gras qui sont gênants pour la pulvérisation. On est donc obligé de débarrasser ces pulpes de leurs graisses. On opère par lixiviation à l'éther. L'appareil employé est un cylindre métallique dont la base est conique et possède un robinet à son extrémité. A l'intérieur de cet appareil, on introduit la pulpe avec de l'éther sulfurique ordinaire anhydre de densité 0.720 à $+15^{\circ}$ C. Après une macération de 24 heures, on ouvre le robinet inférieur et on recueille l'éther. On lave ensuite la pulpe avec de l'éther, puis on évapore entièrement ce dernier par un séjour très court, de la pulpe délipoïdée, à l'étuve à 30° C. L'éther gras recueilli est distillé et peut ainsi resservir à une nouvelle opération.

Il existe aussi des soxhley industriels très pratiques, dans lesquels on fait subir aux glandes desséchées un ou plusieurs passages à l'éther. Dans ces appareils, l'éther peut être récupéré directement et les glandes sont débarrassées de l'éther qui les humecte, après la délipoïdation par un dispositif spécial.

8° *Broyage.*

La pulvérisation des pulpes se fait, soit avec un moulin,

ce qui donne une poudre relativement grossière ; soit avec un broyeur à galets qui donne une poudre très fine, ce procédé a l'avantage de tenir les produits à l'abri des poussières atmosphériques.

9° *Conservation des poudres.*

La conservation des poudres se fait en flacons secs paraffinés et maintenus à l'abri de la lumière et de l'humidité, comme l'indique le rapport de la 14° sous-commission du Codex.

Les produits ainsi préparés seront livrés au malade, soit sous forme de cachets préparés selon les techniques habituelles, soit sous forme de dragées ou de comprimés. Ces produits médicamenteux directement utilisables sont généralement conservés dans des tubes de verre bouchés et paraffinés, mais parfois aussi dans de simples boîtes de carton.

II. — Origine des microorganismes

Nous avons vu, au début de ce chapitre, que la première question qui se pose est la suivante : les microbes viennent-ils de l'organisme lui-même ? Sont-ils apportés à l'organe par des contaminations extérieures ou sont-ils apportés à la poudre pendant sa préparation ? Pour répondre à ces questions, nous avons procédé à un certain nombre d'essais :

1° Nous avons cherché s'il existait des microbes dans les organes au moment de leur prélèvement ; puis nous avons cherché à les identifier et à les compter.

2° Afin de nous trouver dans des conditions exceptionnellement favorables, celles envisagées par le Codex 1908, nous avons effectué des essais en nous plaçant dans des conditions spéciales d'asepsie et nous avons, non seulement étudié les microbes présents, mais cherché de quelle façon ils se répartissent à l'extérieur ou à l'intérieur des organes.

Afin de montrer plus clairement la série de nos essais, nous donnons le plan que nous avons suivi.

Nous avons tout d'abord étudié les organes prélevés dans les conditions habituelles : organes provenant des abattoirs parisiens par l'intermédiaire d'un ramasseur ; organes frigorifiés « à cœur » de provenance étrangère.

Nous avons ensuite continué les mêmes essais sur des organes prélevés par nous-même dans les meilleures conditions possibles d'asepsie.

Nous avons enfin recherché les microbes à l'extérieur et à l'intérieur de la glande.

A) *LES MICROBES TROUVÉS SUR LES POUDRES
D'ORGANES EXISTENT-ILS DÉJÀ SUR LES
ORGANES AU MOMENT DE L'UTILISATION ?*

a) *Organes prélevés dans les conditions habituelles.*

1) *Organes provenant des abattoirs parisiens par l'intermédiaire d'un ramasseur.* Nous avons employé, pour l'étude des organes frais, fournis par un ramasseur, sensiblement les mêmes méthodes que pour l'étude des poudres d'organes. Nous allons indiquer le mode opératoire en raison des quelques modifications que nous avons dû lui faire subir.

Les organes qui arrivent au laboratoire opothérapique sont privés d'une grande partie de leurs annexes ; nous n'avons eu qu'à les éplucher plus complètement avec des instruments propres et stérilisés à la flamme. Nous avons découpé ces organes en fragments d'environ 0.50 gr. (1). Avec des ciseaux stériles nous avons divisé ces fragments autant qu'il est possible, et les avons introduits dans des tubes contenant 10 cc. de sérum physiologique stérile et quelques billes de verre. Par de nombreuses agitations

(1) La pesée exacte des fragments de glande mis en essai n'a pu être faite. Nous aurions, en effet, pendant les manipulations, risqué de trop grandes contaminations ; nous nous sommes borné à estimer les poids des morceaux d'organes prélevés en comparant leur volume à des fragments du même organe exactement pesés.

vives dans tous les sens, nous avons obtenu une émulsion des microbes que pouvaient contenir ces fragments d'organes. Cette émulsion devait nous servir à ensemen- cer nos tubes de gélose fondue. Mais comme nous avons remar- qué que cette émulsion était très chargée en microbes, et donnait par suite, sur les plaques de gélose, un trop grand nombre de colonies, nous avons dû opérer des dilutions dans du sérum physiologique stérile. Nous avons utilisé l'émulsion mère (0.50 gr. dans 10 cc.) diluée au 1/10 et au 1/20 suivant les cas.

Avant de procéder à une numération des microbes dans les organes, nous avons cherché à les identifier, en ense- mençant de nombreuses géloses inclinées et en procédant à des repiquages des colonies poussées. Nous avons ainsi pu constater, que nous sommes en présence des mêmes bactéries que nous avons trouvées dans les poudres d'organes (cocci du groupe Staphylocoque et bacilles du groupe Subtilis). Nos premiers essais de numération nous ont en outre, permis de remarquer que les proportions de ces bactéries entre elles sont du même ordre de grandeur que pour les poudres d'organes (70 à 85 o/o de cocci).

Nous avons réuni les résultats de ces essais dans le tableau suivant :

Nos	NATURE DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme
1	Surrénale	0 g. 00025	Boîte I — 92 » II — 44 » III — 87	296 000
2	Surrénale	0 g. 00025	Boîte I — 74 » II — 76 » III — voile	300.000
3	Ovaire	0 g. 0005	Boîte I — 143 » II — voile » III — 132	274.000

Ces résultats nous permettent de constater que dans les organes prélevés de façon habituelle par les ramasseurs, la

proportion des microbes est d'environ 250 fois plus grande que dans les poudres.

2) *Organes frigorifiés « à cœur » provenant de l'étranger.*
Pour analyser ces organes, nous avons utilisé la même technique que précédemment. Nous avons préalablement fait dégeler les organes dans des récipients très propres, à la température normale du laboratoire, environ $+15^{\circ}$ C.

Nous allons résumer les résultats obtenus dans le tableau suivant :

N ^{os}	NATURE DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme
1	Surrénale	0 g. 00025	Boite I — 84 » II — 72 » III — 76	310.000
2	Ovaire	0 g. 00025	Boite I — 63 » II — 73 » III — 65	272.000
3	Ovaire	0 g. 0005	Boite I — 146 » II — 140 » III — 125	274.000
4	Ovaire	0 g. 0005	Boite I — 131 » II — 150 » III — 88 » IV — 94	230.000
5	Ovaire.	0 g. 0005	Boite I — 54 » II — 49 » III — 58 » IV — 55	108.000
6	Ovaire	0 g. 0005	Boite I — 34 » II — 37 » III — 44 » IV — 43	78.000

Dans ce tableau, il est à remarquer que les essais 5 et 6 présentent des chiffres inférieurs (la moitié ou le tiers) à ceux des essais précédents. Cela est dû à ce que nous avons opéré sur des glandes frigorifiées que nous avons dégelées rapidement au bain-marie à $+40^{\circ}$ C. dans un récipient stérile. Pour les glandes frigorifiées « à cœur » et provenant de l'étranger, le mode de récolte est sensiblement le même

et la contamination doit se faire aux mêmes temps que pour les glandes récoltées dans les abattoirs parisiens. De plus, au moment du dégel, lorsqu'on place des glandes présentant dans leur masse une température de -8 à 10° dans une enceinte à $+6$ ou $+12^{\circ}$ avec laquelle elles se mettront en équilibre de température après un temps plus ou moins long, on observe la condensation de la vapeur d'eau de l'atmosphère et, par suite, des germes à la surface des glandes (GUTTMANN (15)).

Des chiffres trouvés, nous pouvons conclure que les organes livrés aux fabricants, frais et provenant d'abattoirs voisins ou frigorifiés « à cœur » provenant de l'étranger, contiennent un très grand nombre de microbes. D'autre part, nous devons souligner le fait, que dans les trois cas dont nous venons de nous occuper, ces microbes sont exactement les mêmes que ceux trouvés dans les poudres d'organes, et qu'ils se trouvent sensiblement dans les mêmes proportions, les uns par rapport aux autres (de 70 à 85 o/o de cocci et 15 à 30 o/o de bacilles sporulés du groupe *Subtilis*). Si nous nous souvenons que, dans les poudres d'ovaires et de surrénales, nous avons trouvé en moyenne 5.000 microbes par gramme et si nous tenons compte, en outre, du fait qu'un gramme de poudre correspond, suivant l'organe considéré, à 5, 6 ou 7 grammes de pulpe d'organe, nous sommes obligé d'estimer la flore microbienne, apportée par les organes (organes frais et organes frigorifiés dégelés lentement) un nombre sensiblement 250 fois plus grand que celui qui correspond au produit terminé et livré au commerce. Il apparaît donc, avec la plus grande netteté, que la contamination existe dès le début des manipulations que subissent les glandes. Nous allons confirmer tout à l'heure que ces manipulations font plutôt diminuer le nombre de ces microbes.

Nous touchons donc un point particulier, important, du problème que nous étudions : la contamination existe dès le début. Il était donc tout à fait nécessaire que nous allions nous rendre compte de quelle façon ces organes étaient

prélevés, et quelles manipulations ils subissaient avant d'arriver aux laboratoires opothérapiques. Avant d'arriver au laboratoire, les organes ont déjà passé entre les mains : 1) de l'équipe qui abat l'animal et le divise dans l'échaudoir; 2) du personnel du ramasseur, qui recueille les glandes dans les échaudoirs et les transporte dans un local spécial où il les épiluche et les lave.

RÉCOLTE DES GLANDES DANS LES ÉCHAUDOIRS.

Nous avons pu, grâce à l'amabilité d'un fournisseur des laboratoires opothérapiques, ramasseur de glandes, visiter un des abattoirs parisiens, assister à l'abattage des animaux et à la récolte des glandes. Nous allons décrire rapidement la disposition des lieux et la façon dont les choses se passent, depuis l'abattage jusqu'au transport des glandes chez le ramasseur. Le local se compose d'un hall rectangulaire, au sol incliné vers une rigole centrale, parcourue par un courant d'eau. Ce hall, couvert par une verrière, se trouve situé entre deux longs bâtiments, dont le rez-de-chaussée est divisé en pièces assez vastes, dans lesquelles sont suspendus les animaux abattus et dépouillés de leur peau. C'est ce local que l'on appelle « échaudoir ». L'animal à abattre, par exemple un bœuf, est amené à l'entrée de l'échaudoir, dans la partie du hall qui a été lavée depuis le précédent abattage. On entrave l'animal, on lui bande les yeux, puis, à l'aide d'un marteau spécial à long manche, « merlin », le tueur abat l'animal et détruit aussitôt la moelle, en introduisant un jonc dans l'ouverture ainsi pratiquée dans la boîte crânienne. L'animal, aussitôt à terre, est égorgé (section des carotides), afin de le vider de son sang. On le couche alors sur le dos, on l'ouvre entièrement, depuis la gorge jusqu'à l'arrière-train, on lui tranche la trachée et on commence à le dépouiller de sa peau. Ceci fait, on le suspend par les pattes postérieures ; on sectionne alors l'œsophage et le gros intestin, ce qui permet d'enlever rapidement les organes digestifs et respiratoires. On enlève ensuite le cœur, par section des veines et artères. Pendant cette opération,

qui a lieu dans les 15 minutes qui ont suivi l'abattage, on finit d'enlever la peau. On procède ensuite, avec des linges relativement propres, à l'essuyage de l'intérieur et de l'extérieur ; c'est l'habillage.

L'animal est ensuite divisé en quartiers de viande de boucherie, au couteau et à la hache. Pour cela, les aides qui procèdent à ces différents travaux utilisent des couteaux qu'ils portent à leur ceinture, dans une boîte de bois, de forme spéciale. C'est au moment du découpage de l'animal, environ trois quarts d'heure ou une heure après l'abattage, que se pratique la récolte des glandes, utilisées par les laboratoires opothérapiques. Ces organes sont pris à la main, et détachés de l'animal au couteau, sans aucune précaution spéciale. Sur l'animal dont nous nous occupons ici, on prélève les Capsules Surrénales, le Corps Thyroïde et les Lobes Hypophysaires. Les organes ainsi prélevés sont réunis à ceux des abattages précédents, dans un récipient en métal, *non couvert*, et qui séjourne continuellement dans l'échaudoir.

MANIPULATIONS SUBIES CHEZ LE RAMASSEUR.

Plusieurs fois par jour, le ramasseur ou son personnel va recueillir les glandes dans les échaudoirs, afin de les transporter dans leur local particulier. Le local du ramasseur est situé dans l'enceinte des abattoirs, celui que nous avons visité est clair et propre. Le local est tenu avec soin, et il est, ainsi que les tables et le matériel qui servent aux organes, lavé souvent à grande eau, et même désinfecté à l'eau de Javel. Le personnel qui s'occupe des glandes a toujours soin de se tenir propre, afin de ne pas risquer de contaminer les organes. Ces derniers, à leur arrivée dans ce local, sont débarrassés de leurs annexes, puis lavés avec soin, et mis aussitôt à la glacière, à une température inférieure à 0° C. Le ramasseur est en général, fournisseur de plusieurs laboratoires, mais dans certains abattoirs, il représente un seul laboratoire dont il dépend. Les organes sont en général livrés aux fabricants de produits opothérapiques, dans les

24 heures qui suivent la récolte, mais il arrive que la récolte soit supérieure aux demandes, ils sont alors conservés dans des appareils frigorifiques à une température voisine de — 5° C., pendant un temps, en général très court, qui n'excède pas 3 ou 4 jours.

Nous pouvons maintenant remarquer que les organes ont subi de nombreux contacts, soit dans l'échaudoir, soit chez le ramasseur, ce qui donne une explication simple de la pollution par les microbes. Si nous prenons comme exemple les surrénales, qui sont, au moment du prélèvement, particulièrement exposées, nous pouvons voir plusieurs phases de pollution : lorsqu'on enlève les masses intestinales, en sectionnant les extrémités, les glandes peuvent être souillées, car il est possible qu'une partie du contenu intestinal puisse s'écouler au moment de l'enlèvement ; elles peuvent l'être encore pendant l'habillage, à cause de l'emploi de linges d'une propreté douteuse. La contamination peut encore se faire par les mains et les instruments qui touchent la glande ; elle peut aussi se faire pendant le séjour dans l'échaudoir. Chez le ramasseur, malgré les soins de propreté, local et matériel lavés avec des solutions antiseptiques, puis à grande eau, personnel soigneux, la contamination est encore possible. Nous pouvons donc conclure que la plus grande partie de la contamination a lieu certainement à l'échaudoir, et doit se continuer encore chez le ramasseur, mais dans de moins grandes proportions, en raison des soins apportés. Dès lors, toutes les manipulations doivent être effectuées par un personnel éduqué spécialement, dans un atelier isolé des autres pièces, bien propre, d'entretien facile et avec du matériel imputrescible facile à désinfecter, d'où le bois doit être totalement proscrit.

b) Organes prélevés par nous-mêmes dans les meilleures conditions possibles.

Ayant ainsi pu nous rendre compte de la façon dont sont récoltés les organes dans les abattoirs, nous avons voulu opérer nous-même des prélèvements sur

l'animal, en nous rapprochant le plus possible des conditions indiquées au Codex 1908. Rappelons que ces conditions un peu théoriques sont les suivantes : « prélevez les organes dans des conditions d'asepsie rigoureuses ». Nous nous sommes rendus aux abattoirs déjà visités, munis du matériel suivant : pinces et ciseaux, enveloppés dans du papier filtre, bocal couverts de deux épaisseurs de papier filtre, tous ces objets ayant été préalablement stérilisés par un séjour d'une demi-heure au four Pasteur à 170° C. Nous avons pu entrer dans un échaudoir et prélever nous-même les organes que nous désirions étudier. L'animal, un bœuf, a été abattu devant nous, suspendu dans l'échaudoir, les viscères les plus importants ont été enlevés, puis l'animal a été essuyé. Ce n'est qu'après ces divers travaux, qui ne peuvent être effectués par d'autres personnes que par les ouvriers spécialisés (tueur et ses aides), que nous avons pu effectuer notre prélèvement. Pour ceci, nous avons saisi la glande surrénale avec nos pinces stériles, et l'avons détachée avec des ciseaux stériles, avec toutes les précautions possibles, et en prélevant, en même temps, la graisse qui l'entoure, de façon à éviter un contact direct de la glande avec l'air. La glande ainsi prélevée a été immédiatement introduite dans un de nos bocaux stériles, en enlevant rapidement la première enveloppe de papier filtre, et en introduisant la glande par crevaisson de la deuxième enveloppe, puis nous avons replacé la première enveloppe stérile. Nous avons fait ainsi deux prélèvements. Immédiatement, nous avons transporté ces organes au laboratoire, nous les avons débarrassés de leur graisse avec des instruments (pinces et ciseaux) flambés, en évitant tout contact avec des objets non stériles. Nous avons découpé des fragments de glande, d'environ 0.50 g., que nous avons divisés autant que possible, en employant toujours des instruments stériles. Ces fragments ont été émulsionnés dans des tubes contenant 10 cc. de sérum physiologique, comme il a été dit plus haut. Nous faisons seulement remarquer que nous n'avons pas eu besoin de diluer cette émulsion, pour faire les ensemencements. Nous allons résumer dans un tableau les résultats

de ces essais. Toutefois, notons que les essais 3 et 4 ont été faits sur des glandes prélevées par nous-même, avec des instruments non stériles, et transportées aussitôt au laboratoire, dans un papier parcheminé. La suite des manipulations sur ces organes a été faite de la même façon que pour les organes prélevés aseptiquement.

No	NATURE DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
1	Surrénale....	0 g. 05	Boite I — 15 " II — 12 " III — 10	260
2	Surrénale....	0 g. 025	Boite I — 8 " II — 9 " III — 9	360
3	Surrénale....	0 g. 05	Boite I — 37 " II — 36 " III — 31	700
4	Surrénale....	0 g. 025	Boite I — 27 " II — 45 " III — 23	720

D'après ces essais, nous constatons que, malgré les soins apportés aux prélèvements, les glandes apportent avec elles encore des microbes.

Lorsque nous nous sommes servis d'instruments non stériles, nous trouvons comme résultats des chiffres doubles.

Qu'ils soient obtenus avec des glandes fournies par le ramasseur, congelées « à cœur », prélevées par nous-même, les résultats peuvent nous permettre de conclure, à la présence dans les glandes, des microbes identifiés dans les poudres d'organes.

Nous allons décrire maintenant les essais destinés à nous faire connaître si les microbes sont apportés réellement par l'organe lui-même (provenant de la circulation du sang et des autres humeurs de l'animal), ou par une pollution rapide pendant les manipulations (provenant : des liquides intestinaux au moment de l'éviscération ; des personnes qui

touchent à ces organes ; des instruments utilisés ; de l'air ambiant).

B) RECHERCHE DE L'ORIGINE ENDOGÈNE OU EXOGENE DES MICROBES.

Nous avons essayé, dans les essais suivants, de connaître l'origine réelle des microorganismes trouvés (origine exogène ou endogène). Afin de réaliser ces essais, nous avons prélevé des organes de façon aseptique, comme nous l'avons décrit plus haut. Nous avons épluché avec soin ces organes ; puis, avec des ciseaux stériles, nous avons pratiqué une coupe dans la partie la plus épaisse, afin de pouvoir prélever des fragments de glande dans l'intérieur. Ces opérations ont toujours été faites avec des instruments stériles. Suivant la technique employée, nous avons préparé des émulsions, avec des fragments d'environ 0.50 gr., provenant de l'intérieur et de l'extérieur. Lesensemencements sont faits avec cette émulsion, dans des tubes de gélose fondue.

N°	NATURE DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE		NOMBRE DE MICROBES PAR GRAMME	
			Partie externe	Partie interne	Partie externe	Partie interne
1	Surrénale	0 g. 025	Boîte I — 12	Boîte I — 7	400	320
			» II — 10	» II — 10		
			» III — 8	» III — 8		
2	Surrénale	0 g. 05	Boîte I — 14	Boîte I — 11	300	240
			» II — 15	» II — 12		
			» III — 17	» III — 14		

Nous remarquons que ces essais donnent, pour les parties prélevées à l'intérieur, des chiffres voisins, quoique légèrement inférieurs, à ceux des parties prélevées à l'extérieur. Mais, lorsque nous avons procédé à une coupe dans la glande, nos ciseaux stériles, au début de l'opération, ont eu à traverser la partie externe de la glande, partie qui, nous

l'avons vu, est manifestement polluée. Il est donc possible que ces instruments aient pu entraîner, vers l'intérieur, les microbes que nous y avons trouvés.

Afin d'obvier à cet inconvénient, nous avons recommencé ces essais, en modifiant la technique employée de la façon suivante. Nous avons pratiqué la coupe avec un thermo-cautère, de façon à obtenir une coupe absolument stérile. A travers cette surface stérile, nous avons pu faire, avec des ciseaux stériles, un prélèvement de la partie interne, sans risquer la contamination ; seule, l'exposition à l'air pouvait nous faire craindre un apport extérieur de microbes. Ces essais ont été faits sur deux séries de glandes : 1° des glandes recueillies le plus aseptiquement possible par nous-même ; 2° des glandes prises chez le ramasseur aussitôt après la récolte.

1° *Essais sur des organes prélevés aseptiquement
par nous-même*

Nous avons pratiqué le premier essai sur une glande surrénale, par ensemencement de quantités croissantes (0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 CC.) de l'émulsion à 5 o/o, dans quatre séries, de trois tubes de gélose fondue, coulés en boîte de Petri ; puis par ensemencement de 0,5 cc. (par tube) de l'émulsion, dans une série de 12 tubes de bouillon ordinaire.

Nous donnons, dans le tableau suivant, les résultats de cet essai.

ESSAI N° 1

SURRENALE A	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE		
		Boîte I	Boîte II	Boîte III
Série I.....	0 g. 005	0	0	0
Série II.....	0 g. 01	2	0	0
Série III.....	0 g. 025	0	0	1
Série IV.....	0 g. 05	0	1	0

Sur les 12 tubesensemencés avec 0,5 cc. de l'émulsion, soit 0,025 g. de glande, nous constatons qu'il y en a 10 qui sont restés stériles.

Pour les essais suivants, nous avons procédé sensiblement de la même façon. Nous avons préparé des émulsions identiques et nous avons fait lesensemencements avec 0,5 cc. d'émulsion : d'une part, dans 6 tubes de gélose fondue, coulés en boîte de Pétri; d'autre part, dans 12 tubes de bouillon.

Dans les tableaux suivants, nous donnons les résultats obtenus :

NUMÉRO DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE						NOMBRE DE TUBES STÉRILES SUR 12 TUBES ENSEMENCÉS
		B I	B II	III	IV	V	VI	
Surrénale B..	0 g. 025	0	0	0	2	0	0	9
Surrénale C..	0 g. 025	0	0	0	0	0	0	11
Ovaire A....	0 g. 025	2	0	0	0	0	0	10
Ovaire B....	0 g. 025	0	0	0	0	2	0	9
Ovaire C....	0 g. 025	0	0	0	0	0	0	11
Thyroïde A..	0 g. 025	1	0	0	1	0	0	8
Thyroïde B..	0 g. 025	0	0	0	0	0	0	11
Thyroïde C..	0 g. 025	0	0	0	1	0	0	10

*2° Essais sur des organes prélevés par le ramasseur
dans des conditions spéciales*

Nous avons prélevé, par l'intermédiaire du ramasseur, des glandes diverses recueillies comme à l'ordinaire, mais n'ayant séjourné ni dans l'échaudoir, ni chez le ramasseur. Sur ces glandes, nous avons fait les mêmes essais que plus haut, en ensemençant, d'une part, 6 boîtes de gélose; d'autre part, 12 tubes de bouillon.

NUMÉRO DE L'ORGANE	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE						NOMBRE DE TUBES STÉRILES SUR 12 TUBES ENSEMENCÉS
		I	II	III	IV	V	VI	
Surrénale A..	0 g. 025	0	0	0	2	0	1	7
Surrénale B..	0 g. 025	0	2	1	0	0	1	8
Ovaire A....	0 g. 025	2	1	0	0	1	0	10
Ovaire B....	0 g. 025	0	0	0	2	0	0	5
Ovaire C....	0 g. 025	0	2	0	0	0	3	8
Thyroïde A..	0 g. 025	0	0	0	0	3	0	11
Thyroïde B..	0 g. 025	0	2	0	1	1	0	7
Placenta A...	0 g. 025	2	0	1	0	1	4	6
Placenta B...	0 g. 025	0	3	0	1	0	0	8
Testicule A..	0 g. 025	0	0	0	0	0	0	10
Testicule B..	0 g. 025	0	0	2	0	0	0	9

D'après ces deux séries d'essais, nous croyons pouvoir conclure que les microorganismes trouvés ne proviennent pas de l'animal lui-même, c'est-à-dire qu'ils ne proviennent pas du passage des microbes, au moment de la mort, par exemple, des masses intestinales dans les tissus glandulaires. Nous insistons sur ce point que si le prélèvement des glandes n'est fait parfois que trois quarts d'heure ou une heure après la mort de l'animal, l'éviscération, qui représente, à notre avis, l'origine principale de la contamination, est faite environ 15 minutes après l'abattage, c'est-à-dire que le temps, pour une pollution possible par l'intérieur, n'est, en fait, que de 15 minutes.

III. — Modifications de la flore microbienne aux différents temps de la préparation des poudres d'organes

Nous venons de voir, d'une part, que les organes fournis aux laboratoires de produits opothérapiques contiennent un grand nombre de microbes; d'autre part, que les produits, fabriqués à partir de ces organes, contiennent les mêmes microbes, mais dans une proportion sensiblement 250 fois plus faible. Il y a donc eu, pendant les différentes manipulations, que l'on fait subir à ces organes dans les laboratoires, une diminution très importante du nombre des germes. Nous avons voulu chercher quelles sont les manipulations, qui ont provoqué cette diminution. Nous avons donc procédé à des numérations microbiennes, aux différents temps de la préparation de ces produits.

Nous avons, pour ces numérations, employé la technique utilisée depuis le début, c'est-à-dire, préparation d'une émulsion et ensemencement avec cette émulsion ou avec une dilution de celle-ci, dans des tubes de gélose fondue, coulés ensuite en boîtes de Petri. Nous allons indiquer à quels temps de la préparation, nous avons fait ces numérations et comment se présentaient les organes à ces instants.

Pour chaque lot de glandes étudié, nous avons fait la numération :

1° *Sur la glande entière*, telle qu'elle arrive au laboratoire, s'il s'agit de glandes fraîches, ou après dégel, s'il s'agit de glandes frigorifiées « à cœur ». Ces numérations ont été faites dans les mêmes conditions que celles dont nous avons donné plus haut les résultats.

2° *Sur la glande pulpée*. Le pulpage est fait comme nous l'avons déjà dit au hachoir mécanique, à la température ordinaire (environ + 15°C.). Après emploi, le hachoir est lavé à l'eau chaude, puis essuyé avec soin.

3° *Sur la pulpe après étalement.* L'étalement de la pulpe se fait à l'aide d'une spatule large, soit en couche assez mince, sur des plateaux d'aluminium, soit en couche très mince sur des plaques de verre strié. Ce prélèvement ne diffère du précédent que parce que l'étalement de la pulpe est fait en couche mince à l'air, et parce que cet étalement, commencé quelques minutes après le pulpage, se termine environ une demi-heure après la sortie du broyeur. Pendant tout le temps de cette opération, la pulpe reste exposée à l'air du laboratoire, dans des récipients métalliques étamés.

4° *Sur la pulpe sèche à la sortie de l'appareil à dessécher,* après grattage des plaques, avec une brosse métallique propre et sèche. Nous avons, dans ce cas, étudié la pulpe desséchée par les deux procédés indiqués plus haut, c'est-à-dire :

- a) par courant d'air sec et froid, sur plaque de verre strié;
- b) dans le vide à $+35^{\circ}$ sur des plateaux en aluminium.

5° *Sur la pulpe sèche après un séjour de 24 heures à l'étuve.* La pulpe retirée des plaques et plateaux, par grattage, est placée dans une boîte en fer blanc ; cette boîte est mise dans une armoire chauffée par un radiateur et réglée à $+30^{\circ}$. Cette opération a lieu environ une demi-heure après la sortie de l'appareil à dessécher.

6° *Sur la pulpe délipoïdée,* par lixiviation à l'éther, s'il y a lieu.

7° *Sur la pulpe après pulvérisation.* La pulvérisation est faite dans un cylindre en métal, dont l'intérieur est recouvert en briques réfractaires. Cet appareil tourne autour d'un axe central. On introduit la pulpe avec des galets ronds, préalablement lavés à l'eau de Javel, puis à grande eau, et enfin séchés. L'appareil tourne et le frottement des cailloux pulvérise la pulpe. La durée de cette opération varie de 36 à 60 heures par périodes de 12 heures (l'appareil étant arrêté pendant la nuit), suivant le produit à pulvériser (poudre d'ovaires, 36 h. ; poudre de surrénales, 60 h.).

8° *Sur la poudre d'organes, après deux mois de conser-*

vation. La conservation se fait en flacons bouchés et paraffinés, maintenus à la température ordinaire, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Les flacons utilisés, le plus souvent neufs, sont lavés à l'eau et séchés avant l'emploi ; lorsqu'on emploie des flacons ayant déjà servi, ils sont lavés avec une solution chaude de carbonate de soude, puis à l'eau ordinaire et séchés dans une étuve.

Nos essais ont porté sur la préparation des poudres de surrénales et d'ovaires, produits très employés en thérapeutique et dont l'un (poudre de surrénales) est délipoidé à l'éther, alors que l'autre ne l'est pas.

Dans les tableaux suivants, nous donnons les résultats obtenus en classant les produits de la façon suivante :

- 1) Poudres d'Ovaires préparées dans le courant d'air (A-B-C) ;
- 2) » » » dans le vide à $+35^{\circ}$;
- 3) » de Surrénales préparées dans le courant d'air ;
- 4) » » » dans le vide à $+35^{\circ}$;
- 5) » d'Ovaires préparées dans le courant d'air avec modifications ;
- 6) » de Surrénales préparées dans le courant d'air avec modifications.

1° Poudres d'Ovaires préparées dans le courant d'air

Ces essais ont été faits à partir de glandes fraîches pour la poudre d'ovaires A, et avec des glandes frigorifiées « à cœur » pour les poudres d'ovaires B et C.

PHASES de la préparation	QUANTITÉ ensemencée	NOMBRE DE COLONIES par plaque de gélose				NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit		
		N°	A	B	C	A	B	C
Glande entière	0 g. 0005	I	143	146	131	274.000	274.000	250.000
		II	132	140	150			
		III	voile	125	94			
Pulpe de glande	0 g. 0005	I	voile	102	78	258.000	198.000	150.000
		II	130	108	77			
		III	127	89	69			
Pulpe après étalement	0 g. 0005	I	159	159	126	328.000	322.000	242.000
		II	voile	185	102			
		III	170	141	135			
Pulpe sèche	0 g. 001	I	100	111	64	91.000	103.000	63.000
		II	73	102	60			
		III	101	96	67			
Pulpe après 24 heures à l'étuve	0 g. 0005	I	68	83	59	132.000	162.000	68.000
		II	69	90	voile			
		III	62	72	77			
Pulpe après pulvérisation	0 g. 0005	I	23	19	26	50.000	48.000	51.000
		II	25	27	25			
		III	21	25	26			
Poudre après deux mois de conservation	0 g. 002	I	16	10	12	6.500	3.500	5.500
		II	10	5	13			
		III	12	7	8			

2° Poudre d'Ovaires préparée dans le vide à +35°

Cet essai a été fait à partir de glandes frigorifiées « à cœur ».

PHASES DE LA PRÉPARATION	QUANTITÉ ENSEMENCÉE	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Glande entière	0 g. 0005	Boîte I — 131 » II — 150 » III — 94	250.000
Pulpe de glande	0 g. 0005	Boîte I — 78 » II — 77 » III — 69	150.000
Pulpe après étalement	0 g. 0005	Boîte I — 126 » II — 102 » III — 135	242.000
Pulpe sèche	0 g. 001	Boîte I — 67 » II — 61 » III — 49	59.000
Pulpe après 24 heures à l'étuve à + 30°	0 g. 001	Boîte I — 78 » II — 62 » III — 59	66.000
Pulpe après pulvérisation	0 g. 001	Boîte I — 38 » II — 44 » III — 53	45.000
Poudre après deux mois de conservation	0 g. 002	Boîte I — 16 » II — 11 » III — 15	7.000

3° Poudre de Surrénales préparée dans le courant d'air

Cet essai a été fait à partir de glandes fraîches.

PHASES DE LA PRÉPARATION	QUANTITÉS ENSEMENCÉES	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Glande entière	0 g. 00025	Boîte I — 74 Boîte II — 76 Boîte III — voile	300.000
Pulpe de glande	0 g. 0005	Boîte I — 110 Boîte II — 107 Boîte III — 129	230.000
Pulpe après étalement	0 g. 00025	Boîte I — 70 Boîte II — 63 Boîte III — 60	260.000
Pulpe sèche	0 g. 001	Boîte I — 110 Boîte II — 95 Boîte III — 92	99.000
Pulpe après 24 heures à l'étuve à + 30°	0 g. 0005	Boîte I — 47 Boîte II — 55 Boîte III — voile	102.000
Pulpe délipoidée	0 g. 001	Boîte I — 64 Boîte II — 45 Boîte III — voile	53.000
Pulpe après pulvérisation	0 g. 001	Boîte I — 32 Boîte II — 44 Boîte III — 33	36.000
Poudre après deux mois de conservation	0 g. 002	Boîte I — 10 Boîte II — 11 Boîte III — 14	5.800

4° Poudre de Surrénales préparée dans le vide à +35°

Cet essai a été fait à partir de glandes fraîches.

PHASES DE LA PRÉPARATION	QUANTITÉ ENSEMENCÉE	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Glande entière	0 g. 00025	Boîte I — 93 » II — 44 » III — 87	296.000
Pulpe de glande	0 g. 00025	Boîte I — 75 » II — 63 » III — 72	280.000
Pulpe après étalement	0 g. 00025	Boîte I — 78 » II — 76 » III — 77	308.000
Pulpe sèche	0 g. 0005	Boîte I — 57 » II — voile » III — 53	110.000
Pulpe après 24 heures à l'étuve à + 30°	0 g. 0005	Boîte I — 65 » II — 73 » III — 72	140.000
Pulpe délipoidée	0 g. 001	Boîte I — 88 » II — 74 » III — 78	80.000
Pulpe après pulvérisation	0 g. 001	Boîte I — 60 » II — 50 » III — 44	52.000
Poudre après deux mois de conservation	0 g. 002	Boîte I — 12 » II — 17 » III — 13	7.000

*5° Poudre d'Ovaires préparée dans le courant d'air
avec quelques modifications*

Cet essai a été fait à partir de glandes frigorifiées « à cœur ».

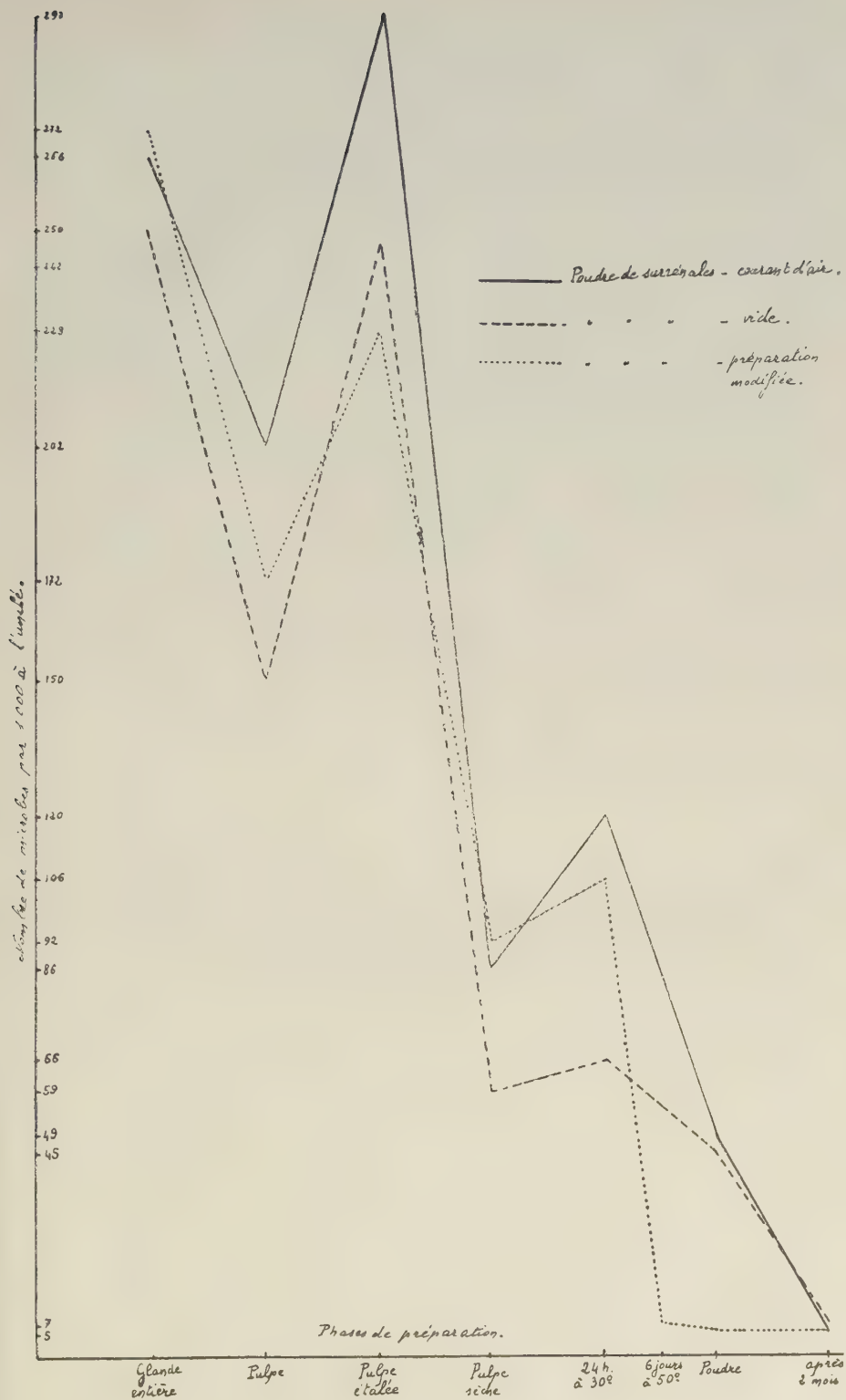
PHASES DE LA PRÉPARATION	QUANTITÉ ENSEMENCÉE	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Glande entière	0 g. 00025	Boîte I — 63 " II — 75 " III — 65	272.000
Pulpe de glande	0 g. 00025	Boîte I — 48 " II — 51 " III — 45	172.000
Pulpe après étalement	0 g. 00025	Boîte I — 61 " II — 54 " III — 56	228.000
Pulpe sèche	0 g. 0005	Boîte I — 43 " II — 49 " III — 46	92.000
Pulpe après 24 heures à l'étuve à + 30°	0 g. 0005	Boîte I — 57 " II — 50 " III — 52	106.000
Pulpe après 6 jours à l'étuve à + 50°	0 g. 001	Boîte I — 7 " II — 8 " III — 8	7.500
Pulpe après 12 heures de pulvérisation	0 g. 001	Boîte I — 5 " II — 6 " III — 6	6.000
Pulpe après 36 heures de pulvérisation	0 g. 002	Boîte I — 13 " II — 8 " III — 9	5.000
Pulpe après 72 heures de pulvérisation	0 g. 002	Boîte I — 12 " II — 7 " III — 12	5.000

6° Poudre de Surrénales préparée dans le courant d'air
avec des modifications

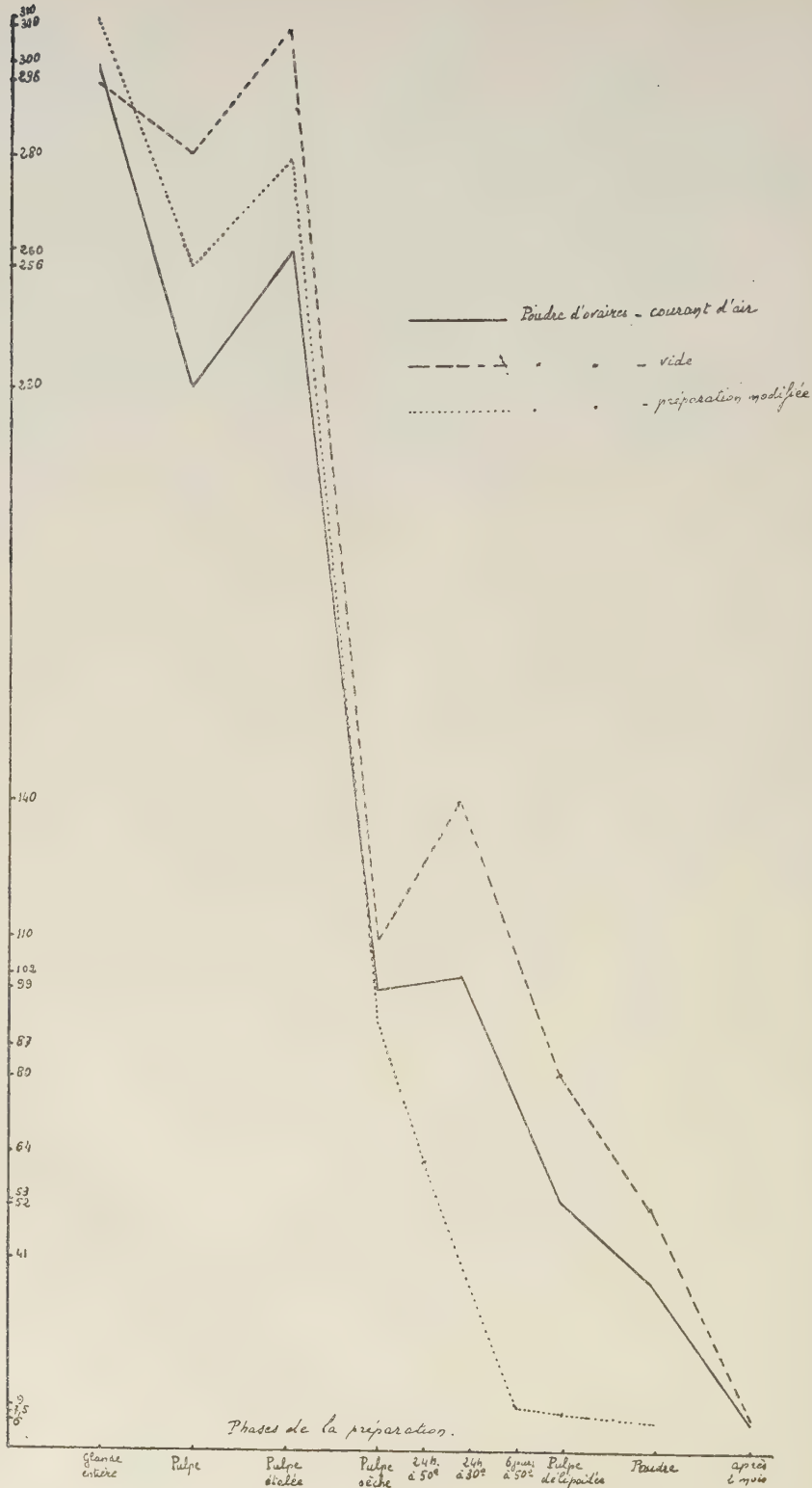
Cet essai a été fait à partir de glandes frigorifiées « à cœur ».

PHASES DE LA PRÉPARATION	QUANTITÉ ENSEMENCÉE	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE	NOMBRE DE MICROBES par gramme de produit
Glande entière	0 g. 00025	Boîte I — 84 Boîte II — 72 Boîte III — 76	310.000
Pulpe de glande	0 g. 00025	Boîte I — 62 Boîte II — 66 Boîte III — 65	256.000
Pulpe après étalement	0 g. 00025	Boîte I — 74 Boîte II — 73 Boîte III — 63	280 000
Pulpe sèche	0 g. 001	Boîte I — 89 Boîte II — 96 Boîte III — 93	93.000
Pulpe après 24 heures à l'étuve à + 50°	0 g. 001	Boîte I — 73 Boîte II — 55 Boîte III — 65	64.000
Pulpe après 6 jours à l'étuve à + 50°	0 g. 001	Boîte I — 9 Boîte II — 10 Boîte III — 8	9.000
Pulpe délipoidée	0 g. 002	Boîte I — 17 Boîte II — 12 Boîte III — 15	7.500
Pulpe après 60 heures de pulvérisation	0 g. 002	Boîte I — 14 Boîte II — 13 Boîte III — 9	6.000

Nous donnons, dans les deux graphiques suivants, les courbes représentant les variations du nombre des microbes aux différents temps de la préparation :



nombre de microbes par 1000 à l'unité.



Phases de la préparation.

*COMPARAISON DES RÉSULTATS OBTENUS SUI-
VANT LA MÉTHODE DE DESSICATION.*

Des résultats précédents, il ressort qu'en employant l'une ou l'autre méthode de dessication, nous obtenons toujours des chiffres voisins, et que nous avons toujours reproduction, aux mêmes temps, des mêmes phénomènes, à savoir augmentation et diminution du nombre des germes.

Pendant le broyage, le nombre des germes diminue très légèrement. Ceci est peut-être explicable par le fait que, dans cette manipulation, il se produit un mélange intime des diverses parties de l'organe ; or, nous avons vu que les parties externes étaient sensiblement plus polluées que les parties internes.

Après l'étalement, ce nombre augmente dans une proportion faible. Pour expliquer ce fait, nous pouvons considérer la contamination par les instruments employés, par les poussières atmosphériques, qui peuvent se déposer sur cette surface plus grande et peu épaisse. Nous pouvons encore considérer que ce milieu est particulièrement favorable à la multiplication microbienne et que celle-ci peut commencer à la température ordinaire. Nous savons, en effet, que dans des conditions favorables, les microbes peuvent se dédoubler et donner naissance à une première génération en une demi-heure ; or, ici, la fin de l'étalement suit d'environ ce laps de temps, la fin du pulpage.

Pendant la dessication, diminution très importante. Nous pouvons nous rendre compte qu'il ne s'agit plus de la pulpe du début, mais d'une pulpe privée d'eau, et que les microbes de la pulpe desséchée peuvent être plus facilement émulsionnés. Ceci nous permet de remarquer que cette diminution est beaucoup plus forte qu'elle ne paraît (1).

(1) La question du contenu en eau du produit étudié a une grosse importance pour l'appréciation des chiffres obtenus. Nous n'avons pas jugé utile de chercher la valeur de cette teneur en eau chez les différents produits traités, parce que, d'après les chiffres qui nous ont été donnés par les laboratoires opothérapiques, chiffres portant sur de

Pendant le séjour à l'étuve, il y a augmentation légère, peut-être est-elle due à un début de multiplication microbienne ; il nous est difficile de l'affirmer, d'autant plus que l'eau présente est, pour ainsi dire, inexistante.

Après la pulvérisation, comme après quelque temps de conservation, nous constatons une nouvelle diminution.

INFLUENCE DE LA DÉLIPOIDATION.

A notre grand étonnement, si nous avons constaté une diminution du nombre des germes après délipoïdation, nous n'avons pas remarqué une action antiseptique absolue de l'éther. Il n'y a pas eu de changements dans la flore bactérienne, et nous ne pouvons même pas dire qu'il y ait eu une résistance spéciale des microbes sporulés, quoique le contact de la pulpe avec l'éther se prolonge pendant 24 heures pour la macération et pendant 5 ou 6 heures pour la lixiviation.

Ce fait, qui a été vérifié plusieurs fois, ne nous semble explicable que par des phénomènes d'ordre physico-chimique, semblables à ceux que l'on retrouve dans l'action de l'alcool à différents titres, sur les bactéries. On sait, en

grandes quantités de substances, il résulte que les produits analysés peuvent se diviser en deux grands groupes :

1° Avant la dessiccation;

2° Après la dessiccation.

Dans le premier, composé : des organes employés, de la pulpe avant et après étallement, nous pouvons admettre que la quantité d'eau est sensiblement la même que celle que l'on peut trouver dans les organes frais ou dégelés (ces derniers sont frigorifiés « à cœur » sans addition d'eau).

Dans le deuxième, nous pouvons ranger la pulpe desséchée au sortir des appareils, la pulpe après passage à l'étuve, la pulpe pulvérisée et conservée.

Nous signalons de nouveau que le poids de 1 gramme de ces produits correspond à 5 ou 7 grammes de ceux du premier groupe; il y a donc eu une perte d'eau de 80 p. 100 et plus.

Nous tenons à faire remarquer aussi que le passage à l'étuve de la pulpe desséchée n'est fait simplement que pour permettre de chasser l'humidité que la pulpe aurait pu prendre pendant le grattage des plateaux; cette opération n'est pas indispensable, car les produits ne perdent pour ainsi dire pas d'eau pendant ce séjour à l'étuve.

effet, que l'alcool dilué est très nettement plus antiseptique que l'alcool très concentré. L'absence d'eau joue peut-être un rôle dans cette préservation des bactéries vis-à-vis de l'éther. Nous examinerons plus loin l'action jouée par un autre produit volatil, le sulfure de carbone, et nous verrons que son action antiseptique a été très nette, contrairement à celle de l'éther.

INFLUENCE DE QUELQUES MODIFICATIONS PORTANT PARTICULIÈREMENT SUR LE TEMPS PASSÉ A L'ÉTUVE ET SUR LA TEMPÉRATURE DE CELLE-CI.

Dans les deux derniers essais nous avons, d'une part, porté la température de l'étuve de $+30^{\circ}$ à $+50^{\circ}$ et, d'autre part, augmenté le temps du séjour à l'étuve. Nous avons ainsi empêché la multiplication microbienne, et cette température plus élevée a eu pour résultat de diminuer la vitalité des microbes. Nous avons ainsi obtenu une diminution du nombre des germes. Ce nombre a passé de 92.000 à 7.500, et de 64.000 à 9.000, nous avons pu ainsi nous rapprocher des chiffres trouvés dans le premier chapitre.

Nous pouvons attribuer cette diminution extrêmement nette du nombre des germes : 1° à l'évolution normale de la multiplication microbienne, qui s'arrête d'elle-même, puis subit une régression, soit à cause de l'épuisement local des conditions favorables au développement des microbes (par exemple, endroit de la poudre qui a conservé un peu d'humidité), soit par suite de la mise en liberté, du fait même de la multiplication des microbes, de substances toxiques, qui agissent sur la pullulation microbienne ; 2° ce qui est plus plausible, à l'action nuisible d'une température relativement élevée et prolongée pendant six jours. La disparition des espèces sporulées nous paraît cependant, d'après cette hypothèse, moins facilement explicable que la disparition des cocci.

INFLUENCE DE LA PULVÉRISATION.

La pulvérisation ne semble pas avoir beaucoup modifié le nombre des microbes. Nous voyons, en effet, dans l'essai n° 5, que, durant les premières douze heures, il y a eu simplement une diminution de 1.500 germes sur les 7.500 qu'il y avait et que, après 36 heures, la diminution n'a guère augmenté (il n'y a que 1.000 germes de moins). Nous n'aurions pas été étonné de trouver une diminution beaucoup plus grande, il aurait pu, en effet, être possible que le choc répété des galets, sans parler de l'échauffement produit, ait pu détruire les microbes d'une façon plus intense.

INFLUENCE DE LA CONSERVATION.

Nous assistons ici à un phénomène extrêmement intéressant. Dans les premiers essais que nous avons effectués, nous avons constaté que les poudres, qui contenaient, au moment de leur mise en flacon, de 40 à 50.000 microbes par gramme, n'en contenaient plus au bout de deux mois de conservation. qu'un nombre variant entre 5 et 7.000. D'autre part, les produits conservés pendant très longtemps (poudres d'ovaires n^{os} 3 et 4, poudre de surrénales n° 14, étudiées dans le premier chapitre), ont montré une diminution encore plus nette, puisque les chiffres trouvés oscillent entre 750 et 1.500, au lieu de 5 à 7.000.

Etant donnée cette conservation, effectuée à la température ordinaire, à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière, il nous est difficile d'invoquer les agents extérieurs, nous sommes donc obligés de revenir à l'hypothèse émise plus haut, à savoir la marche normale d'une culture bactérienne.

En somme, nous assistons finalement, après des périodes de modifications, en des sens divers, du nombre des microbes, à une régression très grande de ce nombre.

Cette régression se fait à deux temps principaux :

1° Pendant la dessiccation de la pulpe, par des procédés spéciaux, quels qu'ils soient ;

2° Pendant la conservation, si le séjour à l'étuve n'a duré que 24 heures à la température de $+30^{\circ}$, ou pendant le séjour à l'étuve. s'il est prolongé pendant six jours à la température de $+50^{\circ}$.

Quoi qu'il en soit de tous ces essais, nous pouvons conclure que la préparation des poudres d'organes et la conservation, non seulement ne nuisent pas à ces médicaments, mais bien au contraire les améliorent, d'une façon indiscutable, en se plaçant au point de vue bactériologique.

IV. — Flores microbiennes contenues dans les poudres alimentaires utilisées couramment sans subir de cuisson

Etant donné l'emploi des médicaments opothérapiques en poudre, qui sont absorbés par la voie buccale, sans subir de nouvelles manipulations spéciales, nous avons été amené à étudier, en qualité et en quantité, la flore microbienne de certains produits alimentaires pulvérisés, employés directement, c'est-à-dire sans cuisson longue, à des températures très élevées. Nous avons choisi : le son, le sucre, la farine et la sciure de bois, quoique cette dernière substance ne soit pas un produit alimentaire (1).

Pour isoler et dénombrer les microbes présents dans ces poudres, nous avons utilisé les méthodes déjà décrites.

Nous avons trouvé les microbes suivants :

1) Dans le son :

le Staphylocoque blanc ;

le » citrin ;

le Bacillus Subtilis ;

(1) Le choix de la sciure de bois nous a été dicté par le rapport de la 14^e sous-commission du Codex, qui déclare que ce produit ne doit pas être utilisé pour aider à la dessiccation des pulpes d'organes ou à leur pulvérisation.

le Bacille voisin du Subtilis identifié déjà sous le
n° VII ;

l'Aspergillus glaucus, var. *Amstelodami*.

2) Dans le sucre en poudre :

le Staphylocoque blanc ;

le » citrin ;

3) Dans la farine :

le Staphylocoque blanc ;

le » citrin ;

le *Bacillus Subtilis* ;

le *Bacillus Simplex* ;

4) Dans la sciure de bois :

le Staphylocoque blanc ;

le » citrin ;

le » doré ;

le *Bacillus Mesentericus Vulgatus* ;

l'Aspergillus glaucus, var. *Amstelodami*.

Nous voyons que, dans l'ensemble, ces produits contiennent les mêmes variétés de microbes que les poudres d'organes; d'autre part, la proportion de cocci, par rapport à celle des bâtonnets sporulés, est sensiblement voisine de 80 o/o, comme nous l'avons signalé pour les poudres d'organes.

Dans le tableau suivant, nous donnons les résultats de la numération microbienne effectuée sur ces produits (1) :

Il nous semble nécessaire, à ce sujet, de rappeler les travaux de MM. HUCKER sur la teneur en microbes des poudres de lait, travaux dont nous avons parlé dans le

(1) Quoiqu'il ne soit pas indiqué ici d'étudier les poudres médicamenteuses chimiques ou galéniques, nous devons rappeler qu'en 1919, Durand, dans sa thèse : « Bactéries et médicaments antiseptiques », a identifié, dans certaines poudres médicamenteuses, des microbes semblables à ceux que nous avons trouvés. Parmi ces microbes, nous retrouvons : les Staphylocoques, les Bacilles (*Subtilis*, *Simplex* et *Mesentericus*); notons, de plus, que ses numérations lui ont donné des chiffres parfois voisins des nôtres, par exemple : Iodoforme, 1.100 germes par gramme; Poudre de Quinquina, 2.450; Féculé, 4.760; Amidon, 3.400; Poudre de Lucas-Championnière, 780.

POUDRE UTILISÉE	QUANTITÉ ENSEMENCÉE	NOMBRE DE COLONIES PAR PLAQUE DE GÉLOSE			NOMBRE DE GERMES PAR GRAMME
		Boîte N°	Microbes (2)	Moississures	
Son.....	0 g. 001	Boîte I	12	2	10.000 microbes et 2.000 moisissures
		« II	7	1	
		« III	10	3	
Sucre.....	0 g. 001	Boîte I	3		4 000 microbes
		« II	5		
		« III	3		
Farine.....	0 g. 001	Boîte I	5		5.000 microbes
		« II	3		
		« III	7		
Sciure de bois.	0 g. 001	Boîte I	8	3	11.000 microbes et 3.000 moisissures
		« II	13	3	
		« III	12	3	

premier chapitre. Ces auteurs se sont trouvés en présence d'un problème semblable à celui que nous venons d'étudier, problème d'autant plus important qu'il s'agissait de matières alimentaires, absorbables sans cuisson préalable (3), en quantité relativement grande et s'adressant particulièrement aux enfants et même aux nouveau-nés. Ils sont arrivés aux conclusions suivantes : il faut que ces produits ne contiennent pas plus de 10.000 microbes par gramme, et surtout ne contiennent pas de Streptocoques hémolytants.

D'après les chiffres que nous venons de donner et d'après les conclusions de MM. HUCKER, nous voyons que dans ces poudres banales, le nombre des microbes est du même ordre que dans les poudres d'organes ; seules, les poudres de pancréas présentent un nombre nettement plus élevé de microorganismes.

(2) Dans l'étude des poudres d'organes, nous n'avons jamais trouvé, par ensemencement direct du produit sur les boîtes de Pétri, de cultures de moisissures. Rappelons que pour les poudres d'organes, les moisissures que nous avons isolées venaient du matériel d'enveloppe du médicament (face inférieure du bouchon, pâte des cachets).

(3) Pour transformer le lait en poudre en lait absorbable, il suffit de le dissoudre dans de l'eau tiède préalablement bouillie.

CHAPITRE III

ESSAIS EFFECTUÉS POUR DIMINUER LE NOMBRE DES GERMES PRÉSENTS DANS LES POUDRES D'ORGANES

Nous avons vu, dans les chapitres précédents, que les poudres d'organes contiennent un nombre de microbes moins grand que celui que nous pensions y trouver ; ce nombre est voisin de celui que l'on peut trouver dans les produits alimentaires ordinaires, employés sans cuisson : pour les produits opothérapiques les plus courants, nous trouvons des chiffres voisins de 5 à 15.000 par gramme. Ces microbes ne sont pas pathogènes et sont semblables à ceux que l'on trouve couramment dans l'atmosphère.

Cependant, l'existence de cette flore microbienne peut être considérée, à tort ou à raison, comme gênante et susceptible, dans certaines conditions défavorables, de prendre une extension nuisible. C'est pour cette raison que nous avons cherché s'il était possible de diminuer, d'une façon pratique, le nombre de ces germes. Nous allons exposer dans ce troisième chapitre les essais que nous avons faits afin de résoudre ce problème.

Disons tout de suite que nous n'avons pas voulu essayer la stérilisation par addition d'antiseptiques, tels que le quinol, les éthers paraoxy-benzoïques (nipagine, nipazol), essais que certains fabricants ont tenté d'introduire dans la pratique courante, et qui sont rigoureusement interdits, dans le rapport de la 14^e sous-commission du Codex.

Nous avons essayé quatre techniques spéciales ; les trois premières étant des opérations supplémentaires tout à fait différentes de celles que nous avons exposées ; la dernière étant une simple modification d'une des phases de la préparation.

Nous examinerons, enfin, comment il serait possible, en améliorant les procédés de « récoltes des glandes », d'apporter aux laboratoires des produits moins riches en germes microbiens. On se rappelle en effet, point particulièrement important, que les microbes sont apportés par les glandes elles-mêmes, et que leur nombre subit, au laboratoire opothérapique, une diminution tout à fait nette, et non pas une augmentation.

Nous voulons obtenir des poudres d'organes contenant une très faible quantité de germes microbiens ; en même temps, nous devons conserver toute sa valeur thérapeutique à la poudre d'organes. Il nous faudrait donc compléter nos essais bactériologiques par des dosages des principes actifs des poudres étudiées. Ce travail serait parfaitement réalisable, en utilisant les méthodes d'essais chimiques préconisées par la sous-commission du Codex, et les méthodes d'essais pharmacodynamiques, qui sont bien au point à l'heure actuelle. Ce travail serait pourtant fort long et difficile à réaliser dans les conditions où nous nous trouvons, en particulier pour ce qui est des essais physiologiques. C'est pourquoi nous nous sommes contenté de doser l'un des principes, le mieux connu, le plus facilement altérable et le plus aisément dosable par voie chimique : l'adrénaline. Nous ne donnons cet essai qu'à titre de simple indication, il est bien évident qu'il faudrait vérifier, pour chaque poudre d'organes en particulier, si le procédé proposé pour diminuer le nombre des microbes n'exerce pas en même temps une action nuisible sur les principes actifs.

L'adrénaline est un corps extrêmement altérable, soit au contact de l'air, soit sous d'autres influences ; elle est facilement dosable par des méthodes physiques, chimiques ou pharmacodynamiques. Nous avons choisi, parmi ces méthodes, la méthode chimique la plus simple utilisée couramment dans les laboratoires ; celle qui a été mise au point par M. O. BAILLY (*Journ. Pharma. et Ch.*, 7 s., t. XXX, 1924, p. 404). Nous avons donc effectué systématiquement l'étude de la variation du nombre des bactéries, et celle de la teneur en adrénaline de la poudre de surrénales.

DOSAGE DE L'ADRÉNALINE PAR COLORIMÉTRIE.

A) Introduire successivement, dans une fiole jaugée de 100 cc. :

Poudre de surrénales	1 g.
Acide sulfurique normal.....	1 cc.
Eau distillée	5 cc.

Laisser macérer un quart d'heure, en ayant soin d'agiter fréquemment, compléter à 100 cc. avec Q. S. d'eau distillée et laisser encore un quart d'heure en contact, en agitant de temps en temps. Filtrer.

B) D'autre part, introduire dans un tube à essai :

Acétate de sodium.....	1 g.
Eau distillée	8 cc.

Agiter jusqu'à dissolution, puis ajouter :

Filtrat ci-dessus	2 cc.
-------------------------	-------

Mélanger et ajouter :

Solution de HgCl_2 à 5 p. 100	111 gouttes
--	-------------

Mélanger à nouveau.

Il ne tarde pas à apparaître une belle coloration rouge, qui atteint son maximum d'intensité au bout de 3 minutes environ, et qui est même suffisamment intense et stable, pour se prêter à un dosage colorimétrique, par comparaison avec la solution d'adrénaline suivante, de titre connu :

Adrénaline pure	0,01 g.
Acide sulfurique normal.....	1 cc.
Eau distilléeq. s. p.	100 cc.

Dans la pratique, on prépare, avec cette solution titrée, la gamme suivante : on numérote 12 tubes à essai, on introduit dans chaque tube 1 gr. d'acétate de sodium, puis de l'eau distillée (pour le premier tube, 9,4 cc., et pour chaque tube suivant, on diminue la quantité de 0,2 cc. chaque fois) et on complète à 10 cc., avec la solution titrée d'adrénaline.

Au dernier moment, on ajoute 111 gouttes de la solution de HgCl^2 à 5 o/o.

Il ne reste plus qu'à comparer le tube à doser avec ceux de la gamme, sachant que chaque tube correspond en adrénaline, à une teneur connue pour un kilogramme de poudre de Surrénales (le tube 1 correspond à 3 pour 1.000 d'adrénaline, et chaque tube correspond à la teneur du précédent, plus une unité).

I. — Essais de stérilisation par le gaz carbonique

Dans cet essai, nous avons été guidé, d'une part, par la notion bactériologique connue, le gaz carbonique peut, dans certains cas, réaliser une réelle asepsie, notion donnée notamment par BUCHANAN et FULMER (4) « Physiology and Biochemistry of Bacteria » qui a montré que le gaz carbonique pouvait être utilisé pour ralentir la croissance bactérienne; d'autre part, par des essais effectués déjà, pour stériliser par le gaz carbonique des produits opothérapiques liquides (1).

Nous avons étudié l'action de ce gaz sur les poudres d'organes ; pour ceci, nous avons opéré de la façon suivante:

Nous avons, dans des boîtes de Pétri stériles, introduit une quantité de poudre d'organes (d'ovaires et de surrénales), dont nous connaissions la teneur en germes microbiens. Ces boîtes ont ensuite été introduites dans un autoclave, préalablement vidé de son eau et séché avec soin. Les boîtes ont été ouvertes et le couvercle placé à côté de la boîte. L'autoclave, une fois fermé avec soin, a été relié par la base (tuyau de vidange) à une bouteille de gaz carbonique sous pression, munie d'un détendeur. Le robinet supérieur de l'autoclave étant ouvert, nous avons commencé à faire pénétrer le gaz carbonique doucement, afin de chasser l'air contenu dans l'appareil. Ensuite, nous avons fermé

(1) Cette indication se trouve notamment dans l'ouvrage de Guy Laroche : « Opothérapie endocrinienne ». L'action du gaz carbonique pour stériliser les extraits fluides opothérapiques aurait été préconisée il y a déjà longtemps par Brown-Séquard et D'Arsonval (6).

le robinet supérieur et réglé l'échappement du gaz, afin de maintenir une pression constante.

Dans le tableau suivant, nous donnons les résultats obtenus par ensemencement des poudres ayant subi des contacts avec le gaz carbonique, variant soit par la durée d'action, soit par la pression du gaz.

PRESSION	TEMPS	QUANTITÉ DE MICROBES PAR GR. D'OVARINE		QUANTITÉ DE MICROBES PAR GR. DE SURRÉNINE	
		avant	après	avant	après
1 kg.	1 h.	6.000	6.000	6.500	6.500
1 kg.	3 h.	6.000	5.800	6.500	6.500
1 kg.	6 h.	6.000	6.000	6.500	6.000
1 kg.	12 h.	6.000	5.500	6.500	6.200
1 kg.	24 h. (1)	6.000	5.500	6.500	6.000
1 kg. 500	12 h.	6.000	5.000	6.500	5.800
2 kg.	12 h.	6.000	5.200	6.500	6.000

Nous constatons, d'après ces essais, que le gaz carbonique, soit que nous n'ayons pas atteint une pression suffisante, soit que le contact ait été trop bref, soit que l'action antiseptique du gaz carbonique ne soit pas suffisante, n'a pas donné, dans les conditions où nous avons opéré, de résultats satisfaisants. Nous n'insisterons donc pas sur ce procédé. Peut-être conviendrait-il de le reprendre, en utilisant des appareils spéciaux, qui permettraient d'atteindre une pression plus grande, maintenue pendant des temps plus longs.

(1) Remarquons que, pendant la nuit, la pression a diminué, car, le matin, elle n'était plus que de 0 kg. 750.

II. — Essais de stérilisation par la vapeur d'eau à 100° C

Nous avons remarqué que les fabricants de produits opothérapiques injectables, stérilisent leurs produits mis en ampoules, à l'autoclave à 100° en vapeur fluente. Malgré la brutalité de ce procédé de stérilisation, nous avons cru de notre devoir de chercher s'il pouvait être possible d'utiliser ce procédé pour stériliser les poudres d'organes. Cependant, ce procédé nous ayant *à priori* paru fort dangereux pour l'activité de certains de ces médicaments, nous avons étudié particulièrement dans ce cas, non seulement la variation de la flore microbienne, mais celle de l'adrénaline, considérée, comme nous l'avons dit plus haut, comme principe actif type de ces poudres d'organes.

Nous avons tout d'abord opéré de la façon suivante : Dans un flacon stérile à large embouchure, nous avons introduit une quantité de poudre de Surrénales, d'environ 50 g., nous avons bouché le flacon avec du coton cardé stérile, puis nous l'avons porté à l'autoclave et nous avons chauffé jusqu'à la température de 100°, en laissant le robinet supérieur ouvert, afin que la température ne dépasse pas 100°. Nous avons maintenu cette température pendant une heure. Après avoir retiré le flacon, nous avons remarqué que notre produit avait pris une très forte proportion d'eau.

Afin d'obvier à cet inconvénient, nous avons modifié la technique de la façon suivante :

Avant de porter le flacon contenant la poudre à l'autoclave, nous l'avons porté au four Pasteur, à une température de 80° pendant 15 minutes, puis, sans le laisser refroidir, nous l'avons transporté dans l'autoclave maintenu à la température de 100°. Nous avons laissé le produit à cette température pendant une heure. A la sortie de l'autoclave, nous avons replacé le produit au four Pasteur pendant une dizaine de minutes, afin de sécher le récipient et le coton. Nous avons, d'après ce procédé, obtenu un produit contenant encore un peu d'humidité. Des essais d'ensemencement du produit obtenu nous ont fait constater une stérilisation

parfaite ; mais le dosage de l'adrénaline nous a donné de mauvais résultats. En effet, cette poudre, qui titrait en adrénaline 7,50 g. pour 1.000, ne titre, après cet essai, que moins de trois grammes pour 1.000.

Nous pouvons conclure, comme nous le pensions dès le début, que ce procédé est inutilisable, car il détruit une grande partie de certains produits actifs. D'autre part, l'introduction d'une certaine proportion d'eau après les opérations de dessiccation, ne peut qu'être nuisible à la bonne conservation du produit.

III. — Essais de stérilisation par le sulfure de carbone

Nous avons trouvé dans les travaux de VAN DE VELDE (30) sur « la stérilisation des farines et des enzymes à l'état pulvérulent », une indication précieuse. Cet auteur a utilisé l'action antiseptique du sulfure de carbone, agissant pendant un temps assez long sur le produit pulvérisé.

Nous donnons, dans ce qui suit, les deux techniques préconisées par cet auteur.

« La substance pulvérulente était introduite dans des
« fioles plates de Soyka stérilisées, munies d'un bouchon et
« de deux tubes ; l'un des tubes plonge profondément dans
« la fiole, l'autre affleurait à la surface inférieure du bou-
« chon. Les tubes, remplis d'ouate, avaient été stérilisés
« avec les fioles qui les portaient, et étaient destinés à fonc-
« tionner ultérieurement comme filtre d'air. La substance
« était largement humectée de sulfure de carbone très pur,
« fraîchement distillé, et les appareils étaient conservés dans
« l'obscurité pendant une dizaine de jours. On faisait alors
« passer au travers des fioles un courant d'air sec, de manière
« à éliminer complètement le sulfure de carbone ; cette
« opération est de longue durée. Généralement, les poudres
« s'aggloméraient, et il était impossible de les détacher par
« une simple agitation ; on a été obligé de détacher la
« substance avec un scalpel stérilisé, au risque de briser
« les fioles, d'ailleurs fragiles.

« L'emploi tout simple de boîtes de Pétri a donné des

« résultats satisfaisants. Les poudres sont introduites dans
« des boîtes de Pétri préalablement stérilisées ; elles sont
« recouvertes de sulfure de carbone pur, fraîchement rec-
« tifié ; le tout est placé, à l'abri de tout courant d'air, dans
« une grande étuve métallique, maintenue à la température
« atmosphérique à l'extérieur du laboratoire. Le sulfure de
« carbone s'évapore spontanément et lentement ; après éva-
« poration, on détache, avec une spatule ou un scalpel stéri-
« lisé, les croûtes éventuellement formées, et on ramène
« aseptiquement la substance à l'état pulvérulent. On peut
« recommencer le traitement au sulfure de carbone si on
« le juge nécessaire. Enfin, on place les boîtes de Pétri avec
« leur contenu pulvérulent dans un exsiccateur en verre,
« dans lequel on fait circuler un courant d'air desséché et
« stérilisé par passage à travers de l'acide sulfurique concen-
« tré. Au bout d'une journée, toute odeur de sulfure de
« carbone a disparu ; on peut admettre que tout le produit
« est débarrassé de tout le réactif employé. Il importe de
« noter que toutes ces opérations ont été faites sans aucun
« chauffage, à la température ordinaire, et que les poudres
« n'ont donc subi d'autre action que celle du sulfure de
« carbone.

« Le sulfure de carbone permet donc, comme pour la
« farine de froment précédemment étudiée, de stériliser
« l'amyrase et pepsinase en poudre, sans nuire à leurs pro-
« priétés hydrolysantes ».

Nous avons répété ces essais sur les poudres d'organes, et nous avons seulement utilisé le deuxième procédé à cause de sa plus grande simplicité. Nous avons étalé dans les boîtes de Pétri stériles une quantité de poudre d'organes (de Surrénales et d'Ovaires) voisine de 10 g. Nous avons recouvert la poudre avec du sulfure de carbone purifié, puis nous avons abandonné à la température atmosphérique extérieure « dans la cour du laboratoire » ces boîtes fermées et placées dans une caisse métallique (nous avons utilisé une petite étuve en cuivre). Cet essai a été fait au mois de mai alors que la température variait entre + 10° (tempéra-

ture nocturne) et $+18^{\circ}$ (température diurne). Les boîtes sont restées pendant 10 jours afin d'obtenir une évaporation lente et spontanée du sulfure de carbone. Nous avons terminé cette opération d'une façon un peu différente de celle de M. VAN DE VELDE, en plaçant nos boîtes de Pétri ouvertes sous une cloche à vide et en produisant : d'un côté, le vide à l'aide d'une trompe à eau et, de l'autre côté, une rentrée d'air séché et stérilisé par passage à travers un long tube en U contenant de l'acide sulfurique. Après un séjour de 24 heures dans cet appareil, les poudres ne présentaient plus l'odeur caractéristique du sulfure de carbone. Nous avons alors effectué sur ces poudres les prélèvements habituels, et nous avonsensemencé en tubes de bouillon ordinaire. Nous avonsensemencé six tubes par produit et *aucun de ces tubes n'a donné lieu à une poussée microbienne.*

Nous pouvons conclure que l'action du sulfure de carbone a été parfaitement efficace. De plus, si nous nous rappelons que, selon cet auteur, cette action ne diminue en rien l'activité diastasique, nous pouvons admettre que ce mode de stérilisation est d'un incontestable intérêt.

Cependant, le mode opératoire utilisé n'est applicable que sur de petites quantités de poudres d'organes pour des essais dits « de laboratoire ». Nous avons donc voulu essayer sur une plus grande quantité de produit cette action efficace du sulfure de carbone ; nous avons été logiquement conduit à essayer de stériliser ces produits, en substituant le sulfure de carbone à l'éther, dans les opérations de délipoïdation. Pendant la délipoïdation par l'éther, la macération ne dure que 24 heures ; dans l'essai de stérilisation par le sulfure de carbone, la macération dure environ 10 jours ; nous avons donc pensé à délipoïder par le sulfure de carbone, en prolongeant la macération pendant plusieurs jours.

Nous avons employé du sulfure de carbone pur, de densité 1,27 et dont le point d'ébullition est de $+46^{\circ}$ C. Dans une ampoule à décantation, bouchée au coton stérile, nous avons introduit la pulpe de surrénales à délipoïder, nous l'avons recouverte de sulfure de carbone pur, et nous

avons fait macérer le tout pendant 48 heures. Après cette macération, nous avons soutiré le sulfure de carbone, recouvert la pulpe avec une nouvelle quantité de liquide et laissé macérer pendant encore 48 heures. Nous avons ensuite soutiré le liquide et lavé la pulpe avec une faible quantité de sulfure de carbone pur. Par un séjour de l'ampoule pendant deux heures à l'étuve à $+40^{\circ}$ C., nous avons séché la pulpe, sans nous débarrasser de l'odeur caractéristique du sulfure de carbone. Afin de chasser cette odeur, nous avons fait circuler à travers la pulpe un courant d'air ; l'air est aspiré par une trompe à vide reliée à la base de l'ampoule et traverse ainsi le bouchon de coton et la pulpe. Au bout de six heures, le produit est entièrement désodorisé. La numération des germes a été faite sur la pulpe, avant et après traitement, par le sulfure de carbone.

Pour le premier essai, nous avons utilisé une pulpe de surrénales, contenant 14.000 microbes par gramme ; après traitement au sulfure de carbone, des ensemencements sur gélose en boîte de Pétri n'ont présenté aucune culture microbienne. Pour le deuxième essai, fait sur une pulpe contenant 16.500 microbes par gramme, nous avons obtenu les mêmes résultats.

Nous avons donc obtenu, en employant le sulfure de carbone comme solvant des matières grasses, une stérilisation parfaite. Nous avons tenu à savoir, suivant l'action du sulfure de carbone, sur le produit délipéïdé et pulvérisé (technique de VAN DE VELDE), ou sur la pulpe en le substituant à l'éther, si le produit contient toujours la même quantité d'adrénaline.

Pour les deux produits traités suivant la méthode de VAN DE VELDE, nous avons eu conservation parfaite de l'adrénaline, et les produits titrant 7,50 pour 1.000 ont conservé leur titre. En substituant le sulfure de carbone à l'éther, nous avons obtenu des résultats analogues. Pour chaque essai, nous avons opéré sur une partie seulement de la pulpe, provenant d'un même lot de glandes, l'autre partie étant délipéïdée, comme d'habitude, à l'éther. Les dosages de l'adrénaline nous ont permis de constater que le titre

des produits obtenus est le même suivant le solvant employé. Nous avons, en effet, trouvé un titre en adrénaline de 8,50 pour 1.000 dans le premier essai et de 9 g. pour 1.000 dans le second, aussi bien avec le sulfure de carbone qu'avec l'éther.

IV. — Modification d'une phase de la préparation : passage à l'étuve

Il nous semble utile, maintenant, de rappeler les modifications que nous avons fait subir à la préparation des poudres d'organes; modifications qui, nous l'avons indiqué dans le deuxième chapitre, nous ont donné des résultats satisfaisants.

Nous avons vu qu'à la sortie de l'appareil à dessécher, les pulpes sèches sont placées pendant 24 heures dans une étuve réglée à $+30^{\circ}$. Comme nous avons remarqué que, durant cette phase de la préparation, il se produisait une augmentation du nombre des microbes, nous avons eu l'idée d'augmenter légèrement la température ($+50^{\circ}$), afin qu'elle soit moins favorable à la multiplication microbienne, et de prolonger la durée du séjour (six jours au lieu de 24 heures). Nous avons ainsi obtenu une diminution notable du nombre des germes. Rappelons les chiffres des tableaux 5 et 6 du deuxième chapitre, avant et après un passage de six jours à l'étuve à $+50^{\circ}$, ce sont : pour la poudre d'ovaires, 92.000 microbes avant et 7.500 après ; pour la poudre de surrénales, 93.000 microbes avant et 9.000 après.

Pourtant, malgré l'augmentation relativement petite de la température, $+50^{\circ}$ au lieu de $+30^{\circ}$ (nous tenons à faire remarquer à ce sujet que le Codex autorise une température de $+40^{\circ}$ pour la dessiccation; cette température de $+40^{\circ}$ pourrait nous paraître, au point de vue où nous nous sommes placés, plus dangereuse en raison de la présence d'eau dans la pulpe), nous avons cru nécessaire de chercher s'il n'y avait pas destruction du principe actif, choisi comme type : l'adrénaline. Nous avons fait nos essais sur la pulpe sèche de surrénales, en dosant l'adrénaline à

chaque prélèvement. Ces dosages nous ont donné des résultats identiques avant et après le passage à l'étuve à $+50^{\circ}$. En effet, dans l'essai indiqué au deuxième chapitre, nous avons trouvé 9,50 g. pour 1.000 d'adrénaline, dans la pulpe sèche sortant de l'appareil à dessécher, et nous avons retrouvé la même quantité, 9,50 g. pour 1.000 dans la pulpe, après un passage de six jours à l'étuve à $+50^{\circ}$. Nous pouvons donc au moins, dans ce cas particulier, conclure que cette modification dans la technique n'a pas changé la valeur du produit. La modification que nous proposons, c'est-à-dire augmentation de la température de l'étuve et de la durée du séjour (six jours à $+50^{\circ}$), nous paraît donc fort capable de donner des résultats satisfaisants. Il n'en reste pas moins vrai, qu'étant donné plus peut-être la prolongation du séjour que l'augmentation de la température, il faudrait faire encore des vérifications pour être bien certain que l'activité des produits est parfaitement conservée.

De tous ces essais nous pouvons, en résumé, conclure :
que le gaz carbonique, tout au moins dans les conditions où nous avons pu opérer, n'a pas donné de résultats ;

que la vapeur d'eau à 100° a donné de bons résultats au point de vue bactériologique, mais fort mauvais au point de vue de l'activité et de la conservation du produit ;

que le sulfure de carbone nous a donné : suivant la technique de VAN DE VELDE de bons résultats, mais cette technique a l'inconvénient de ne traiter que de petites quantités de poudres chaque fois ; par substitution à l'éther comme solvant des matières grasses, de bons résultats bactériologiques sans détruire l'adrénaline, mais cette méthode ne peut s'appliquer qu'aux produits qui subissent une déli-poidation et qui contiennent des principes actifs insolubles dans le sulfure de carbone ;

que le séjour plus long à l'étuve à une température plus élevée a donné une diminution importante du nombre des microbes, sans qu'il y ait eu destruction du principe actif (adrénaline).

Il n'en est pas moins vrai, et nous insistons particulièrement sur ce point, que si nos essais sont parfois valables au point de vue bactériologique, ils sont insuffisants au point de vue de la conservation de la valeur thérapeutique des médicaments. Certes, nous avons étudié la variation d'un principe actif (adrénaline) qui nous paraît le plus facile à détruire, nous ne pouvons pas affirmer que tous les principes utiles en opothérapie seront ainsi respectés. Nous croyons cependant que des vérifications ultérieures montreront l'inocuité à cet égard des procédés que nous avons employés.

Pour bien mettre en évidence les modifications produites ou non dans la teneur en adrénaline sous l'influence de nos essais, nous réunissons dans le tableau suivant les chiffres que nous avons donnés aux différents paragraphes :

TITRE après préparation normale	TITRE après stérilisation par la vapeur	TITRE après stérilisa- tion par le sulfure de carbone	TITRE après délipoi- dation par le sulfure de carbone	TITRE après séjour à l'étuve à + 50°	TITRE après conservation de 2 mois
7,50 g. ‰	— de 3 g. ‰	7,50 g. ‰			
7,50 g. ‰	— de 3 g. ‰	7,50 g. ‰			7,00 g. ‰
9,50 g. ‰				9,50 g. ‰	9,00 g. ‰
8,50 g. ‰			8,50 g. ‰		
9,00 g. ‰			9,00 g. ‰		
6,50 g. ‰					6,00 g. ‰ 4 mois
					6,00 g. ‰
6,25 g. ‰					6,00 g. ‰ 4 mois
					5,50 g. ‰
10,50 g. ‰					10 g. ‰ 4 mois
					10 g. ‰

**V. — Modifications proposées en vue
d'améliorer les manipulations que subissent les glandes
avant leur arrivée au laboratoire**

N'est-il pas possible, avant l'arrivée au laboratoire, de diminuer le nombre des germes présents dans les organes, en améliorant le mode de prélèvement sur l'animal et les manipulations préliminaires (nettoyage, épluchage) subies par ces organes. A première vue, il semble difficile d'agir lorsque ces opérations sont effectuées dans des pays lointains (République Argentine, Madagascar). En fait, il est parfaitement possible d'agir sur ces prélèvements, aussi bien que nous pouvons le faire dans les abattoirs français; il suffirait d'instituer un contrôle bactériologique à l'arrivée des organes et de refuser les glandes présentant une souillure microbienne trop prononcée. Pour ce qui est des organes recueillis dans les abattoirs français, d'après ce que nous avons vu (d'ailleurs décrit dans le deuxième chapitre), il nous semble possible de proposer des améliorations. En dehors des améliorations, qui sont certainement réalisables lors de l'éviscération, c'est-à-dire au moment de l'ablation de tous les organes de l'animal, en prenant soin que les liquides septiques (contenu intestinal notamment) ne puissent venir se répandre sur les muscles et les glandes, et, pour ce point particulier, il est difficile de donner des précisions, nous pouvons cependant, pour un certain nombre d'opérations, proposer les améliorations suivantes :

1° Que l'habillage soit fait avec des linges propres ;

2° Que le prélèvement des glandes soit fait, non plus par les ouvriers de l'abattoir (aides du tueur), mais par un ramasseur spécialisé, dans les meilleures conditions possibles de propreté : blouse propre, mains soigneusement lavées et, surtout, emploi d'instruments stériles, en évitant de prendre la glande avec les mains ;

3° Que les organes ne séjournent pas trop longtemps dans l'échaudoir et que ce séjour ait lieu dans des récipients,

sinon stériles, tout au moins d'une propreté parfaite et *surtout couverts* ;

4° Nous avons dit dans le deuxième chapitre que, déjà dans le local réservé au ramasseur régnait une propreté faisant un contraste net avec la façon de recueillir les glandes dans l'échaudoir. Il nous semble cependant possible d'améliorer encore les manipulations que l'on fait subir à ces organes. Il est nécessaire d'insister sur la rapidité avec laquelle doivent se faire l'épluchage et le nettoyage des organes, afin qu'ils séjournent le moins longtemps possible à l'air, et sur la nécessité de les manipuler, non pas directement avec les mains, mais par l'intermédiaire d'instruments stériles. Ces organes seront, aussitôt après ces manipulations, placés à la glacière dans des récipients stériles, en attendant d'être livrés aux laboratoires organothérapiques.

Il est d'ailleurs souhaitable qu'il existe une entente entre laboratoires et ramasseurs, de façon que le stock soit livré le jour même. Le transport des glandes, à partir du local du ramasseur vers les laboratoires organotechniques, doit être aussi surveillé spécialement et surtout en été; dans ce cas, il est à conseiller de transporter les glandes dans des glacières ou plus simplement dans de la glace.

CONCLUSION

Du travail que nous présentons ici, nous pouvons tirer les données suivantes :

1° Les poudres d'organes, qu'elles soient préparées à partir de produits recueillis aux abattoirs voisins ou à partir de produits frigorifiés « à cœur » et venant de loin, qu'elles soient desséchées par l'un ou l'autre procédé, contiennent un nombre de microbes généralement compris entre 5 et 15.000 pour un gramme de produit. Les produits les plus courants (poudres d'ovaires et surrénales), conservés de façon normale, sont ceux qui en contiennent le moins. Ce nombre de microorganismes est parfaitement comparable à celui que l'on peut trouver dans des produits alimentaires (sucre, farine, son, lait en poudre, etc.), utilisables sans cuisson préalable.

2° Ces microbes sont présents sur les organes à leur arrivée au laboratoire. Cependant, ils ne sont pas apportés dans les glandes après la mort de l'animal par le passage des liquides septiques de l'organisme. Ils proviennent de la contamination produite particulièrement lors du prélèvement et aussi des manipulations subies par les organes avant leur livraison aux laboratoires organothérapiques. Ces microbes appartiennent tous à la flore présente dans l'air d'une façon courante; ce sont :

Le *Micrococcus pyogenes albus* (*Rosenbach*)

Le *Micrococcus pyogenes citreus* (*Passet*)

Le *Micrococcus pyogenes aureus* (*Rosenbach*)

Le *Bacillus Mesentericus Vulgatus* (*Flügge*)

Le *Bacillus Subtilis* (*Cohn*)

Le *Bacillus Simplex* (*Meyer et Gottheil*)

Les deux bacilles voisins du *Bacillus Subtilis*
classés sous les numéros VII et VIII.

Ces microorganismes ne sont pas pathogènes.

Malgré de nombreux essais, nous n'avons pas décelé de bacilles anaérobies ni de Streptocoques.

Nous n'avons pas trouvé de moisissures, celles que nous avons identifiées proviennent uniquement des enveloppes des poudres (bouchons et azymes); ce sont :

Mucor Racemosus (*Lendner*)

Aspergillus Glaucus var. *Amstelodami* (*Mangin*)

Penicillium Brevi-Compactum, 188 (*Dierckx-Biourge*)

Citromyces Pfefferianus, 31 (*Wehmer*)

Willia Anomala (*Hansen*).

3° Sous l'influence de la préparation ordinaire des poudres d'organes, que ce soit par l'une ou l'autre technique utilisée, le nombre des microbes présents dans la glande diminue fortement; il s'abaisse de près de 250 fois. Les manipulations subies par ces glandes dans les laboratoires orthonothérapiques ne semblent donc pas être la cause de la présence de cette flore microbienne.

4° Un certain nombre d'essais ont été faits pour diminuer le nombre des microbes. Parmi ces tentatives, les unes : action du gaz carbonique et action de la vapeur d'eau à 100°, n'ont pas donné de bons résultats, soit par suite de l'inactivité sur les germes, soit par suite de la destruction des principes actifs; les deux autres nous ont donné de bons résultats. L'action du sulfure de carbone, soit sur le produit terminé, soit comme remplaçant de l'éther dans la délipoïdation, lorsqu'elle a lieu, a donné des résultats satisfaisants au point de vue bactériologique, sans détruire le principe actif de la poudre d'organes mise en jeu (adrénaline de la poudre de surrénales). Une simple modification à la technique normale de préparation : séjour plus long à l'étuve (six jours au lieu de 24 h.) et température plus élevée (+50° au lieu de +30°), nous a donné des résultats fort intéressants. Nous avons assisté, dans ce cas, à une diminution très nette du nombre des germes (de 92.000, ce nombre est tombé à 7.500 pour la poudre d'ovaires, et de 93.000 à 9.000 pour la poudre de surrénales). Nous avons vérifié, dans ces deux cas, que l'adrénaline des poudres de surrénales n'est pas détruite; il reste à vérifier qu'il en est de

même pour tous les autres principes actifs des poudres d'organes.

5° Fait extrêmement important, sur lequel nous tenons à insister : les microbes sont apportés par les glandes. Il en résulte que l'on doit chercher à diminuer ou éviter la contamination de ces glandes avant leur arrivée aux laboratoires. Dans ce but, nous avons proposé des modifications aux procédés actuellement suivis pour la récolte des glandes à l'échaudoir, pour le nettoyage et l'épluchage de ces glandes dans le local du ramasseur, pour le transport aux laboratoires organothérapiques. Toutes les modifications ainsi proposées peuvent se résumer dans la recherche, sinon de l'asepsie, tout au moins d'une propreté bien plus grande dans l'exécution de ces opérations préliminaires.

Il semble que l'on puisse améliorer de la même façon ces premières manipulations en ce qui concerne les glandes frigorifiées « à cœur ». Rappelons que les poudres d'organes préparées à partir de glandes frigorifiées ne contiennent pas plus de microbes que celles préparées à partir de glandes fraîches. Il est cependant possible d'améliorer encore, à ce point de vue particulier, la technique, en procédant, par exemple, à un dégel rapide dans des conditions bactériologiques améliorées, en travaillant dans une chambre aussi sèche et propre que possible, exempte de poussières, de façon à éviter une condensation d'eau entraînant des germes sur les organes.

Vu, bon à imprimer :

Vu :

Le Président de la thèse :

Le Doyen de la Faculté :

RADAIS.

GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris :

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAILLY (O.). — Dosage de l'adrénaline dans les poudres de Surrénales. *Journ. Pharm. et Ch.*, 7 s., t. XXX, 1924, p. 404.
2. BIOURGE (Ph.). — Les moisissures du groupe *Penicillium* Link. Etude monographique. *La Cellule*, vol. 33, 1923, p. 1.
3. BERGEY. — Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore, 1923.
4. BUCHANAN ET FULMER. — Physiology and Biochemistry of Bacteria. Baillière, Tindall and Cox, London, 1928.
5. BURNET (Et.). — Bactéries des poussières. *Ann. Inst. Past.*, t. XXXI, 1917, p. 593.
6. BROWN-SEQUARD ET D'ARSONVAL. — D'après Opothérapie endocrinienne de Guy Laroche. Masson et C^{ie}, Paris, 1925.
7. CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) ET BOCQUET (A.). — Manuel technique de microbiologie et de sérologie. Masson et C^{ie}, Paris, 1925.
8. CHOAY (E.). — Influence du mode de préparation sur l'activité des extraits opothérapiques. *Journ. Pharm. et Ch.*, 6 s., t. XXVIII, 1908, p. 56.
9. CHOAY (E.). — La préparation des extraits opothérapiques. *La Pharmacie française*. Sept. 1922, p. 362.
10. DAVID (R.). — Contribution à l'étude du Bacille Pyocyanique dans différents milieux de culture liquides. Influence de la teneur des milieux en certains éléments nutritifs. *Th. Doct. ès Sc.*, Paris, 1931.
11. DOTER (Ch.) ET SACQUEPEE. — Précis de Bactériologie. Baillères et fils, Paris, 2 vol., 1921.
12. DURAND (R.). — Bactéries et médicaments antiseptiques. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Nancy, 1919.
13. FLUGGE (C.). — Die Mikroorganismen. F.-C.-W. Vogel, 2 vol., Leipzig, 1896.
14. GUILLIERMOND (A.). — Clef dichotomique pour la détermination des levures. Le François, Paris, 1926.
15. GUTTMANN EMERI. — Contribution à l'étude des viandes frigorifiées. *Th. Doct. Un. Med.*, Paris, 1931.
16. HENRICI (A.-T.). — Molds, Yeasts and Actinomycetes. J. Wiley, New-York, 1930.

17. HERISSEY (H.). — Altération et conservation des médicaments chimiques et galéniques. *Th. Agrég. Hist. Nat. et Pharm.*, Paris, 1909.
18. HUCKER (G.-J.) ET HUCKER (A.-M.). — The number and type of bacteria in commercially prepared infant foods. *Zent. f. Bakt.*, 2 s., t. LXXXI, 1930, p. 444.
19. KAPLAN-BRILLE (Mme A.). — Influence du nombre des microbes sur la multiplication du Bacille Pyocyane dans un milieu de culture liquide. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1931.
20. LANGERON ET TALLIER. — Nouvelle méthode d'étude et d'essais des champignons levuriformes. *Ann. Parasito.*, t. X, 1932, p. 1.
21. LE BLAYE (R.) ET GUGGENHEIM (H.). — Manuel pratique de diagnostic bactériologique. Vigot frères, Paris, 1914.
22. LEHMANN (K.-R.) ET NEUMANN (R. D.). — Manuel de bactériologie. *Edition française par le docteur A. Philiberti*. J.-B. Baillères et fils, Paris, 1913.
23. MARTELLY (E.). — La digestion animale et la putréfaction. Comparaison des phénomènes diastatiques. *Th. Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1902.
24. Rapport de la 14^e sous-commission du Codex à la Société de Pharmacie. *Journ. Pharm., et Ch.*, 8 s., t. I^{er}, 1925, p. 400.
25. SARTORY (R.). — Guide pratique des principales manipulations de mycologie parasitaire à l'usage des pharmaciens. Le François, Paris, 1917.
26. SARTORY (A.) ET LANGLAIS (M.). — Poussières et microbes de l'air. Poinat, Paris, 1912.
27. SARTORY (A.), SCHEFFER (L.), PÉLISSIER P.) ET VAUCHER (C.). Procédé d'évaporation, de concentration et de dessiccation de toutes substances organiques ou minérales. *Bull. Acad. Sc.*, 1921, t. CLXXII, p. 744.
28. THOM (C.). — The Penicillia. Williams et Wilkins C^o, Baltimore, 1930.
29. THOM (C.) ET CHURCH (M.). — The Aspergilli. Williams et Wilkins C^o, Baltimore, 1926.
30. VAN DE VELDE (A.-J.-J.). — La stérilisation des farines et des enzymes à l'état pulvérulent. *Bull. Acad. Roy. Belg., Cl. des Sc.*, 5 S., t. XVI, 1930, p. 585.
31. VAN TIEGHEM (Ph.) ET LE MONNIER (G.). — Recherche sur les Mucorinées. *Ann. Sc. Nat.*, 5 S., t. XVII, 1873.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	13
--------------------	----

CHAPITRE I^{er}

ÉTUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES MICRO-ORGANISMES PRÉSENTS DANS LES PRODUITS OPOTHÉRAPIQUES	17
--	----

I. — Etude de diverses poudres d'organes.....	17
---	----

II. — Techniques utilisées pour l'isolement et l'identification des microorganismes	28
---	----

A. — Isolement et identification des bactéries aérobies	28
---	----

Recherche particulière du Streptocoque.....	44
---	----

B. — Isolement et identification des bactéries anaérobies	45
---	----

a) Ensemencement direct en gélose profonde de Veillon	45
---	----

b) Ensemencement en gélose de Veillon après chauffage	46
---	----

c) Ensemencement en gélose de Veillon « vaccinée » contre le Staphylocoque	47
--	----

d) Ensemencement en gélose de Veillon après enrichissement	49
--	----

C. — Isolement et identification des moisissures.....	50
---	----

1. Essai d'isolement des moisissures à partir des poudres d'organes bien préparées et bien conservées	50
---	----

2. Isolement des moisissures à partir du matériel d'enveloppe des poudres d'organes....	51
---	----

3. Isolement de moisissures et de levures sur des produits provenant de flacons et de cachets avariés	52
---	----

4. Identification des moisissures et de la levure..	53
---	----

III. — Les organismes isolés présentent-ils quelque pouvoir pathogène ?	68
A. — Essais par injection	68
B. — Essais par ingestion	71
IV. — Numération des microbes contenus dans les poudres d'organes	74

CHAPITRE II

ORIGINE DES MICROORGANISMES. MODIFICATIONS DE LA FLORE MICROBIENNE AUX DIFFÉRENTS TEMPS DE LA PRÉPARATION DES POUDRES D'ORGANES	81
I. — Préparation des poudres d'organes	82
A. — Codex 1908	82
B. — Rapport de la 14 ^e sous-commission du Codex...	83
C. — Techniques utilisées en pratique	84
II. — Origine des microorganismes	90
A. — Les microbes trouvés sur les poudres d'organes existent-ils déjà sur les organes au moment de l'utilisation ?	91
a) Organes prélevés dans les conditions habituelles	91
1. Organes provenant des abattoirs parisiens par l'intermédiaire d'un ramasseur	91
2. Organes frigorifiés « à cœur » provenant de l'étranger	93
b) Organes prélevés par nous-même dans les meilleures conditions possibles	97
B. — Recherche de l'origine endogène ou exogène des microbes	100
1. Essais sur les organes prélevés aseptiquement, par nous-même	101
2. Essais sur des organes prélevés par le ramasseur dans des conditions spéciales	102
III. — Modifications de la flore microbienne aux différents temps de la préparation des poudres d'organes	104

IV. — Flores microbiennes contenues dans les poudres alimentaires utilisées sans subir de cuisson.....	119
--	-----

CHAPITRE III

ESSAIS EFFECTUÉS POUR DIMINUER LE NOMBRE DES GERMES PRÉSENTS DANS LES POUDRES D'ORGANES	122
1. Essais de stérilisation par le gaz carbonique..	122
2. Essais de stérilisation par la vapeur d'eau à 100°	127
3. Essais de stérilisation par le sulfure de carbone	128
4. Modification d'une phase de la préparation : passage à l'étuve	132
5. Modifications proposées en vue d'améliorer les manipulations que subissent les glandes avant leur arrivée au laboratoire.....	135
Conclusion	137
Bibliographie	141



